



Étude de l'implication du Nerve Growth Factor et des Acid-Sensing Ion Channels dans l'hypersensibilité colique induite par le butyrate chez le rat

Julien Matricon

► To cite this version:

Julien Matricon. Étude de l'implication du Nerve Growth Factor et des Acid-Sensing Ion Channels dans l'hypersensibilité colique induite par le butyrate chez le rat. Neurosciences. Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I; Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2010. Français. NNT : 2010CLF1MM25 . tel-00719685

HAL Id: tel-00719685

<https://theses.hal.science/tel-00719685>

Submitted on 20 Jul 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ BLAISE PASCAL
Année 2010

UNIVERSITÉ D'Auvergne
N° d'ordre 25Doc

École Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Thèse

Présentée à l'Université d'Auvergne
pour l'obtention du grade de Docteur d'Université
(Décret du 5 juillet 1984)
Spécialité Neurosciences
présentée et soutenue publiquement le 12/03/2010

Julien MATRICON

**Étude de l'implication du Nerve Growth Factor et des Acid-Sensing
Ion Channels dans l'hypersensibilité colique induite par le butyrate
chez le Rat**

Président du jury : Pr Alain ESCHALIER, INSERM, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand
Directeur de thèse : Pr Denis ARDID, INSERM, Institut Universitaire de Technologie, Clermont-Ferrand
Rapporteurs : Dr Emmanuel Bourinet, CNRS, Université Montpellier 1, Montpellier
Pr Philippe Ducrotté, Service de Gastro-Entérologie, CHU Rouen
Dr Éric Linguégia, CNRS, Université Nice-Sophia Antipolis, Valbonne

UMR INSERM U766/UdA, Pharmacologie Fondamentale et Clinique de la Douleur
Faculté de Médecine/Pharmacie
28, place Henri Dunant 63001 Clermont-Ferrand

École Doctorale Des Sciences de la Vie et de la Santé

Thèse

**Présentée à l'Université d'Auvergne
pour l'obtention du grade de
DOCTEUR d'Université
(Décret du 5 juillet 1984)
Spécialité Neurosciences
soutenue le 12/03/2010**

Julien MATRICON

**Étude de l'implication du Nerve Growth Factor et des Acid-Sensing
Ion Channels dans l'hypersensibilité colique induite par le butyrate
chez le Rat**

Président du jury : Pr Alain ESCHALIER, INSERM U766/UdA, Clermont-Ferrand

Directeur de thèse : Pr Denis ARDID, INSERM U766/UdA, Clermont-Ferrand

Rapporteurs : Dr Emmanuel Bourinet, CNRS UMR5203, Montpellier

Dr Philippe Ducrotté, Service de Gastro-entérologie, CHU Rouen

Dr Eric Linguégla, CNRS UMR6097, Valbonne

**UMR U766 INSERM/UdA Pharmacologie Clinique et Fondamentale de la Douleur
Faculté de Médecine/Pharmacie
28, place Henri Dunant 63001 Clermont-Ferrand**

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur le Professeur Alain ESCHALIER de m'avoir accueilli au sein de l'unité INSERM U766 "Pharmacologie Fondamentale et Clinique de la Douleur". J'ai pu apprécier son crédit, son bagout et son entregent scientifiques durant ces quatre années. Sa confiance, son enthousiasme et son incroyable talent pour trouver des financements m'ont offert l'opportunité de nombreux congrès et collaborations.

Je souhaite remercier tout particulièrement Messieurs les Rapporteurs qui m'ont fait l'honneur d'évaluer et de critiquer le travail présenté dans ce mémoire de thèse. Merci au Docteur Emmanuel BOURINET pour ses remarques pertinentes, pour son acuité dans les questions aussi bien techniques que théoriques, pour son enthousiasme scientifique et pour sa collaboration au "projet butyrate". J'ai également pu bénéficier de la présence dans ce jury du Professeur Philippe DUCROTTÉ. Je le remercie vivement pour l'attention qu'il a accordée à la lecture de ce manuscrit ainsi que pour son précieux apport à la discussion de mes résultats. Ses remarques ont bien sûr permis d'apporter un éclairage clinique mais ont également traduit une curiosité et une pertinence scientifiques que j'ai particulièrement appréciées. Enfin, merci au Docteur Éric LINGUEGLIA pour son accueil lors de mon passage dans son laboratoire de Sophia-Antipolis, pour ses conseils pertinents, sa vision passionnée et talentueuse des sciences et pour sa gentillesse. Ses remarques pointues et précises ont permis d'améliorer le manuscrit. Je souhaite donc remercier chaleureusement Messieurs les Rapporteurs pour leurs avis éclairés et leurs critiques constructives qui ont permis de développer une discussion très intéressante lors de la soutenance de mon travail de thèse et également d'améliorer plusieurs points dans le mémoire.

J'adresse mes remerciements au Professeur Denis ARDID qui m'a confié la poursuite de l'étude d'un modèle de syndrome de l'intestin irritable plein d'avenir et désormais cher à mon cœur : le "modèle butyrate". Je le remercie de sa confiance et de son aide toujours pertinente dans la direction de ma thèse. Merci à lui d'avoir été disponible dans les moments importants malgré un planning souvent surbooké.

Merci au Docteur Agathe GELOT pour sa confiance, sa patience et sa très grande disponibilité. Par son implication et sa connaissance approfondie de la physiologie viscérale, elle a (presque) réussi à me convertir à ce domaine de la biologie que j'ai découvert en profondeur durant ma thèse. Grâce à elle, j'ai également pu me résigner à réaliser un travail de coupe aussi impitoyable et douloureux que nécessaire dans la partie bibliographique de ce mémoire. Son soutien et sa sollicitude tout au long de cette thèse ont été très importants pour moi.

Un grand merci à Monique ÉTIENNE pour son aide dans la tâche débilante de prélèvement de DRG, pour ses conseils expérimentés en immunohistochimie, pour son enthousiasme, son dynamisme et sa curiosité scientifique. Par delà le côté professionnel et notre passion commune pour l'hygiène, la sécurité et la démarche qualité, j'ai pu trouver en elle un soutien inconditionnel même dans les plus grands moments de découragement. Sa solidarité dans l'échec, son humour décapant, sa passion des livres et son amitié m'ont été précieux.

Je remercie aussi, non sans une certaine émotion, mes compagnons de science (et de déconne) : Jérôme Busserolles pour son exhubérance contenue, sa maîtrise de la petite blague par en-dessous et sa compagnie lors des moments “apéro” ; David Barrière (alias Fence) et Stéphane Lolignier (alias Fanou) pour les discussions scientifiques de qualité, les bons délires partagés au labo et au bar ainsi que pour les petites dissensions rugbalistiques (l’ASM championne de France, quel rigolo ce David!!) ; Stéphanie Grégoire pour son accent chantant ainsi que pour l’exploration de la vie culturelle et des bars à vins clermontois ; Maily Devilliers (alias Matin Serein) qui a réussi l’impossible réunion de l’exotisme vietnamien et de la folie montluçonnaise ; Laetitia Chapuis (alias Martine) pour sa bonne humeur et ses free hugs ; les post-docs Damien Brosson, Emilie Müller, Céline Silberberg et Bing Ling qui ont apporté fougue scientifique, dynamisme, “overseas english experience” et petits plats délicieux. Merci à eux tous pour le “team building”, si important pour l’ambiance dans le labo.

Merci à Éric Chapuy pour sa gentillesse, son humour, sa sagesse chafouine et son engagement pour le labo. Sa passion du Randall n’a d’égale que celle du Clermont-Foot Auvergne. Merci à Karim Alloui pour ses compliments et son crédit scientifique. Merci à Sophie Garcin pour son professionnalisme et sa bonne humeur. Un grand merci à Sylvie Renaud pour sa redoutable efficacité dans le traitement des commandes venant de toutes parts et dans la prise en charge des demandes de chacun, sans jamais se départir de sa bonne humeur et de sa gentillesse.

Merci à mes éminents collègues du 4^{ème} R2, Jean-Paul Caudron, Christine Courteix, Laurence Daulhac, Anne-Marie Privat et Anne-Sophie Wattiez chez qui j’ai été initié aux joies du Western blot.

Un grand merci à tous ceux qui n’étaient que “de passage” mais dont la rencontre, de par leur gentillesse et l’ambiance si fraîche et légère qu’ils ont entretenue, m’a procuré des moments d’insouciance durant cette thèse. Je pense notamment à Mehdi Ait-Lahsen en qui j’ai pu trouver un alter ego “cortiqué” pour des discussions socio-politiques sans fin ; à Aude Zangarelli au charme et à la bonne humeur constantes ; à Frédéric Libert pour ses blagues de potache et son inégalable verve moyen-âgeuse ; à Simon Loïodice pour sa bonne humeur, la finesse de ses remarques et son désir irrépressible de faire connaissance (approfondie) avec le monde étudiant ; à Claire Géral aux si enfantins et touchants “désolée” ; à Yao Potchoo au sourire éternel ; à Hervé Dano dont la patience incommensurable a permis de venir à bout des pires problèmes informatiques ; à Sophie Guenu pour sa gentillesse et ses réflexions sur l’insolubilité de certains problèmes expérimentaux et sur la carrière scientifique ; à Marie-Ange Coudoré et Gisèle Pickering pour leur sourire et leur gentillesse ; à Didier Chanteranne (alias Lapin), mon tout premier stagiaire, qui, en obtenant les mêmes non résultats que moi, m’a sauvé.

Merci donc à tous les stagiaires qui ont eu la (grande) chance de travailler avec moi: Didier, Cindy Henrion, Thomas Bourron, Léa Lasvaux, Sébastien Lamy et Romain Legrand.

J’adresse de plus mes remerciements aux collaborateurs extérieurs qui m’ont fait profité de leur expertise et parfois de leur amicale sollicitude : Michel Lazdunski et Nicolas Voilley de l’Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire ; Fabrice Rossignol sans qui la génétique moléculaire me serait restée énigmatique ; Lemlih Oucchane qui a éclairci mes horizons statistiques ; Anne Cayre, Nadège Rabiau et

Nasséra Chalabi qui m'ont initié au TaqMan ; Jérôme Fayolle et Sandrine Vialat qui m'ont fait découvrir la magie de la bio-analyse et du séquençage dans une ambiance décontractée.

Une mention particulière à Christelle Drégnaux et Claire Szcapaniak du centre d'imagerie chez qui j'ai réussi mes plus belles manips et chez qui l'atmosphère lumineuse et féminine fût toujours d'un grand dépaysement.

Une grosse pensée à mes prédécesseurs: à Xavier Pichon (alias Pichou) qui a été mon guide dans la jungle urbaine clermontoise, toujours partant pour le sport, la culture et la boisson et dont l'optimisme débordant et la passion de la science et de l'enseignement m'ont conduit à la découverte de bien des réalités et de bien des questions existentielles ; à Christophe Mallet (alias Toff) le Dr Jekyll & Mr Hide de la boisson ; à Céline Hoareau qui avec les difficultés qu'elle a rencontrées durant les cinq années de sa thèse m'a permis de savoir que gagner "le bout du rouleau d'or" pouvait conduire au bout du tunnel ; à Nathalie Dupin et Karima Kessal, si jolies et si compétentes amies avec qui j'ai fait mes premières armes dans la "science".

Merci aux clermontois mais néanmoins amis : -du CBRV: Vanessa Tixier (alias Raoul) et Pauline Aubel (alias Popo) dont les deux cerveaux combinés ont été la source de moult moments d'anthologie, Pierre Sauvanet (alias Pedro), Nicolas Figeac (alias Nico), Nina Wüstrack ; -et du club d'aïkido: Marie-Pierre Beaudoin, Frédéric Lacour et Aurélie Senneton, Matthieu Gérardin, Nicolas Cachet, Frédéric Basso et Catherine Charvillat, William et Angeline Guyot-Lénat, Antoine Delcamp...

Sans oublier les rats dont la vie a été sacrifiée pour la patrie, pour la science et pour la gloire et sans qui ces travaux n'auraient pu avoir lieu. Et un grand merci à Interchim (pour Alpha Diagnostic International) qui a fourni THE anti-ASIC1a antibody qui m'a permis de réaliser (presque) toutes mes manips de bio cell...

Merci à la communauté Wikipedia.

Une pensée particulière pour Sonyta.

Enfin, merci à ma famille qui, elle, n'a jamais douté ; un soutien inestimable...

1 thèse
650 rats
750 articles lus
1338 jours de joies et de remises en question
3500 lames histologiques réalisées
3900 instillations intra-rectales
57 000 euros en investissement matériel et congrès

En essayant continuellement, on finit par réussir. Donc : plus ça rate, plus on a de chances que ça marche. Devise Shadok.

L'homme de science qui ne voit d'intérêt que dans la science, qui est incapable de goûter l'art et de s'enrichir à son contact est un homme difforme, un homme incomplet. Lucrèce, De natura rerum.

Les douleurs viscérales sont des douleurs diffuses et irradiantes dont le traitement est souvent problématique faute d'étiologie bien identifiée. En particulier, les douleurs abdominales observées dans les troubles fonctionnels digestifs (TFI) s'expriment en l'absence d'atteinte organique ce qui rend difficile la compréhension des mécanismes physio-pathologiques de ces troubles. Cette problématique est un enjeu de santé publique puisque les TFI, et en premier lieu le syndrome de l'intestin irritable (SII), concerneraient 20% de la population occidentale.

Les études cliniques fournissent des pistes de recherche sur l'origine des troubles dans les TFI mais sont souvent insuffisantes pour décortiquer leurs mécanismes physio-pathologiques. Les modèles animaux apparaissent comme une voie alternative permettant de tester des hypothèses diverses sur l'origine des douleurs viscérales. Nous avons ainsi utilisé un modèle animal de SII développé au laboratoire, le modèle butyrate, qui se base sur des données cliniques rapportant un excès de butyrate, un acide gras à chaîne courte, dans le côlon des patients atteints de SII. Ce modèle consiste en 6 instillations intra-coliques de butyrate 200mM, réalisées sur une durée de 4 jours, qui induisent une hyper-sensibilité colique (HSC) chez le rat dès la fin des instillations. L'HSC induite par le butyrate est évaluable par le test de distension colo-rectale (DCR). Elle est persistante et ne s'accompagne pas de lésion de la muqueuse colique ce qui est en accord avec les caractéristiques cliniques du SII.

Après avoir établi la pertinence du modèle butyrate pour l'étude du SII, l'équipe s'est attaché à l'étude des mécanismes par lesquels le butyrate induit une HSC. Un traitement néo-natal des rats par la capsaïcine, qui permet de détruire les fibres nociceptives de type C, empêche le développement de l'HSC induite par le butyrate chez ces rats devenus adultes. Les afférences coliques de type C transmettent donc le message douloureux viscéral induit par le butyrate. L'objectif premier de ce travail de thèse a été de déterminer par quel mécanisme le butyrate sensibilise ces afférences. Nous avons émis l'hypothèse que le nerve growth factor (NGF), une neurotrophine impliquée dans la nociception et dans les processus d'inflammation neurogène des nerfs entériques dans le SII, pourrait contribuer à la sensibilisation colique.

Implication du NGF dans l'HSC

Nous avons montré que l'administration répétée d'anticorps anti-NGF (voie i.p.) prévient l'HSC induite par le butyrate, évaluée lors du test de DCR. De plus, nous avons montré par immuno-histo-chimie (IHC) que le NGF est exprimé dans le côlon des rats traités avec du butyrate mais son expression n'y est pas augmentée. En revanche, le NGF est sur-exprimé dans les ganglions rachidiens dorsaux (GRD) innervant le côlon. Ces résultats indiquent que le NGF est impliqué dans l'HSC induite par le butyrate et que son action pourrait s'exercer principalement au niveau du système nerveux périphérique (GRD). En effet, le NGF est impliqué dans le développement des phénomènes d'hyperalgie en induisant l'expression de molécules jouant un rôle clé dans la nociception comme les canaux ioniques. Notre attention s'est portée sur les canaux ioniques sensibles à l'acide (ASIC) et le transient receptor potential vanilloïd1 (TRPV1) car de nombreuses études ont montré l'implication de ces canaux dans les douleurs viscérales et leur modulation par le NGF.

Implication des canaux ASIC dans l'HSC

Nous avons montré que l'administration d'amiloride (antagoniste des canaux ASIC, voie i.v.) mais pas celle de capsazepine (antagoniste du TRPV1, voie i.p.) prévient l'HSC induite par le butyrate, évaluée lors du test de DCR. L'HSC induite par le butyrate implique donc un mécanisme dépendant des ASIC mais pas de TRPV1. De plus, nous avons montré par RT-PCR semi-quantitative que le niveau d'expression des ARNm des gènes codant les sous-unités ASIC1A et ASIC1B est augmentée dans les GRD des rats butyrate. L'augmentation du niveau d'expression des ARNm a été corrélée à une augmentation de l'expression de la protéine ASIC1A dans les GRD, quantifiée par IHC. En déterminant la proportion de neurones immuno-réactifs (IR) à la protéine ASIC1A, nous avons montré que sa sur-expression est restreinte aux neurones de petit diamètre. Ces résultats montrent que le canal ASIC1A est impliqué dans l'HSC induite par le butyrate. Nous avons ensuite voulu savoir si, en accord avec la bibliographie, la sur-expression de ASIC1A pouvait être la conséquence de celle du NGF.

Modulation de l'expression de ASIC1A par le NGF dans l'HSC

Nous avons tout d'abord montré par microscopie confocale que le NGF et son récepteur de haute affinité (trkA) sont colocalisés avec ASIC1A dans les neurones sensoriels et en particulier dans ceux exprimant le calcitonin gene-related peptide. Nous avons ensuite montré par IHC et par Western blot que la sur-expression de ASIC1A dans les GRD est prévenue par le blocage du NGF

grâce à l'administration répétée d'anticorps anti-NGF (voie i.p.). Ces résultats indiquent que la sur-expression de ASIC1A dans l'HSC induite par le butyrate est dépendante du NGF. Nous pouvons conclure que le NGF et le canal ASIC1A interviennent dans les GRD (et probablement dans les neurones sensoriels de type nociceptif) où ils participent aux phénomènes de sensibilisation concourant au développement de l'HSC induite par le butyrate. Nous ne rapportons pas de variation d'expression du NGF ou de ASIC1A au niveau colique. Ce résultat suggère que la mise en jeu de ces molécules ne se fait pas au niveau des terminaisons libres coliques mais plutôt dans l'élément pré-synaptique de la première synapse nociceptive centrale où elles pourraient amplifier l'activité synaptique médullaire. Nous avons ainsi émis l'hypothèse que l'HSC induite par le butyrate est associée à une sensibilisation centrale de la moëlle épinière (MEp).

Sensibilisation centrale dans l'HSC

Nous avons utilisé la méthodologie Fos, un marqueur de l'activité neuronale, afin d'évaluer l'état d'excitation de la MEp chez les rats butyrate. L'étude de l'expression spinale de la protéine Fos chez les rats soumis à une DCR nocive répétée a montré que les rats traités avec du butyrate présentent une densité de neurones Fos-IR augmentée par rapport aux rats contrôles dans les couches superficielles de la corne dorsale de la MEp. L'HSC induite par le butyrate s'accompagne spécifiquement du recrutement des segments thoraciques T10-T11-T12 de la MEp dans lesquels nous avons observé une hyper-réactivité neuronale en réponse à la DCR. De plus, en l'absence de stimulation colique, les rats butyrate présentent hyper-activité basale dans les segments T10-T11-T12. Comme le canal ASIC1A spinal participe aux courants provoqués par un stimulus douloureux, nous avons ensuite voulu savoir si cette hyper-activité de la MEp pouvait être la conséquence d'une transmission synaptique accrue impliquant ASIC1A. Nous avons montré que l'administration de PcTx1 (antagoniste des canaux ASIC1A, voie i.t.) prévient l'HSC induite par le butyrate, évaluée lors du test de DCR. Ce résultat indique que les canaux ASIC1A participent aux mécanismes centraux de l'HSC dans le modèle butyrate. Nous avons également montré par RT-PCR et Western blot que le canal ASIC1A est sur-exprimé dans la MEp des rats butyrate. De plus, il est exprimé dans les neurones spinaux activés par la DCR où il est co-localisé avec Fos. ASIC1A pourrait donc participer à la transmission du message nociceptif viscéral dans la corne dorsale de la MEp. L'expression des ARNm codant les sous-unités ASIC2A et ASIC2B a également été trouvée augmentée dans la MEp par RT-PCR ce qui suggère que l'hyper-excitabilité spinale observée dans le modèle butyrate pourrait résulter d'une augmentation des conductances ioniques générées par l'activation des

canaux hétéromériques de type ASIC1/ASIC2. Tout comme à la périphérie, la sur-expression de ASIC1A pourrait être sous dépendance du NGF. Nos résultats montrent en effet que le NGF est exprimé dans la MEp et que l'administration systémique répétée d'anticorps anti-NGF prévient la sur-expression des ARNm et de la protéine ASIC1A dans la MEp des rats traités avec du butyrate.

En conclusion, ce travail de thèse suggère que le NGF et le canal ASIC1A jouent un rôle critique dans le développement de douleurs viscérales en contribuant à la fois aux phénomènes de sensibilisations périphérique et centrale. La meilleure compréhension des mécanismes d'interaction ASIC-NGF dans l'HSC pourrait donc ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le traitement des douleurs viscérales d'étiologie inconnue comme le SII en se basant sur des stratégies visant à diminuer l'effet potentialisateur du NGF sur les ASIC.

Involvement of nerve growth factor (NGF) and acid-sensing ion channels (ASIC) in colonic hypersensitivity induced by butyrate in the rat

Functional gastrointestinal disorders are characterized by abdominal pain and discomfort that affect the quality of life of many patients worldwide. Irritable bowel syndrome (IBS), the most common functional gastrointestinal disorder, is characterized by intractable visceral hypersensitivity in absence of any structural or biochemical abnormality of the colon. The lack of understanding regarding its precise pathophysiology makes the identification of new drug targets difficult. This issue is a public healthcare stake since functional gastrointestinal disorders, and especially IBS, affect 20% of the western population.

Animal models are an useful way of testing etiological hypotheses on the mechanisms of visceral pain provided by clinical studies. We thus used an animal model of IBS, the butyrate model, which has been developped in the lab with respect to clinical data reporting a higher colonic concentration of butyrate, a short chain fatty acid, in patients with IBS. This model consists of six intracolonic enemas of butyrate 200mM, performed in four days, which induce a colonic hypersensitivity (CHS) in the rat starting from the last enema. Butyrate-induced CHS can be assessed using the colorectal distention (CRD) test. This CHS is persistent and is not associated with mucosal alterations what is relevant for the clinical characteristics of IBS.

Face validity, predicitive validity and construct validity of the butyrate model have been explored and we now aimed at decyphering the peripheral and central mechanisms by which butyrate induces CHS. Preliminary results had shown that a neonatal treatment with capsaicin, which destroys nociceptive peptidergic C-fibres, prevented the development of butyrate-induced CHS in adult rats. Colonic type C afferences thus convey the nociceptive message induced by butyrate. The main goal of our work was to determine what mechanisms underly sensitization of these afferences by butyrate. We hypothesized that nerve growth factor (NGF), a neurotrophin involved in nociception and in neurogenic inflammation of enteric nerves in IBS, could contribute to sensitization of the colon.

Involvement of NGF in CHS

We have shown that repeated administrations of anti-NGF antibodies (i.p. route) prevented the butyrate-induced CHS, assessed by the CRD test. Moreover, we have shown with immuno-

histo-chemistry (IHC) that NGF was expressed in the colon of rats treated with butyrate but its expression was not increased. On the other hand, NGF was overexpressed in dorsal root ganglia (DRG) innervating the colon. These results suggested that NGF is involved in butyrate-induced CHS and that it could exert its effect mainly in the peripheral nervous system (DRG). The NGF is indeed involved in the development of hyperalgesia by inducing the expression of molecules playing a key role in nociception such as ion channels. We have focused on acid-sensing ion channels (ASIC) and transient receptor potential vanilloid1 (TRPV1) according to numerous papers reporting their involvement in visceral pain and their modulation by the NGF.

Involvement of ASIC in CHS

We have shown that administration of amiloride (ASIC antagonist, i.v. route) but not of capsazepine (TRPV1 antagonist, i.p. route) prevented butyrate-induced CHS, assessed with the CRD test. Butyrate-induced CHS thus involves an ASIC-dependent TRPV1-independent mechanism. Furthermore, we have shown with semi-quantitative RT-PCR that the expression level of ASIC1a and ASIC1b mRNA was increased in DRG of rats treated with butyrate. This increase was correlated to an increase in the expression of the ASIC1A protein in DRG, quantified with IHC. By determining the proportion of ASIC1A immuno-reactive (IR) neurons, we have shown that this overexpression was limited to small-diameter neurons. These results indicated that the channel ASIC1A was involved in butyrate-induced CHS. We then wanted to know if, according to the bibliography, ASIC1A overexpression could be consecutive to that of NGF.

Modulation of ASIC1A expression by NGF in CHS

We first have shown with confocal microscopy that NGF and its high affinity receptor (trkA) were colocalized with ASIC1A in sensory neurons and especially in those expressing calcitonin gene-related peptide. We then have shown using IHC and Western blot that ASIC1A overexpression in DRG was prevented by blocking NGF with repeated administrations of anti-NGF (i.p. route). These results suggested that ASIC1A overexpression was NGF-dependent. We concluded that NGF and ASIC1A intervene in DRG (and likely in nociceptive sensory neurons) where they contribute to sensitization phenomena leading to butyrate-induced CHS. However, we did not report any variation in the expression of NGF and ASIC1A in the colon. This result suggested that these molecules are involved rather in the presynaptic element of the first central nociceptive synapse where they could enhance the synaptic transmission than in the free synaptic

endings of the colonic wall. We thus have hypothesized that butyrate-induced CHS was associated to central sensitization of the spinal cord.

Central sensitization in CHS

We have used the Fos method, a marker for neuronal activity, in order to evaluate the spinal excitability in rats treated with butyrate. The study of spinal expression of Fos protein in rats challenged with repeated noxious CRD showed that butyrate rats presented an increase in the density of Fos-IR neurons in the superficial layers of the thoracic dorsal spinal cord in comparison with control rats. Butyrate-induced CHS was characterised by a specific recruitment of the thoracic spinal segments T10-T11-T12 in which we found a neuronal hyperresponsiveness to CRD. Moreover, in absence of colonic stimulation, butyrate-treated rats presented a basal hyperactivity in these segments. As the spinal ASIC1A channel contributes to ion currents evoked by painful stimulations, we wanted to know if this spinal hyperactivity could be consecutive to an increased synaptic transmission involving ASIC1A. We have shown that PcTx1 administration (ASIC1A antagonist, i.t. route) prevented the butyrate-induced CHS, assessed with the CRD test. This result suggested that ASIC1A channels contribute to central mechanisms of CHS in the butyrate model. We have also shown with RT-PCR and Western blot that ASIC1A was overexpressed in the spinal cord of rats treated with butyrate. Moreover, it was expressed in spinal neurons activated by CRD where it was colocalized with Fos. ASIC1A could thus participate to the transmission of the nociceptive visceral message in the dorsal spinal cord. The expression level of ASIC2a and ASIC2b mRNA was also found increased in the spinal cord using RT-PCR what suggested that the spinal hyperexcitability in the butyrate model could result from an increase in ion conductances generated by the activation of heteromeric channels type ASIC1/ASIC2. Similarly to the peripheral mechanisms of butyrate-induced CHS, the overexpression of ASIC1A could be NGF-dependent. Our results have indeed shown that NGF was expressed in the spinal cord and that systemic administration of anti-NGF antibodies prevented the overexpression of ASIC1A mRNA and protein in butyrate rats.

To conclude, this work suggest that NGF and ASIC1A play a key role in the development of visceral pain by contributing to peripheral and central sensitization. Improving the understanding of NGF-ASIC1A interplay could lead to new lines of research in the treatment of visceral pain of unknown etiology such as CHS in IBS, based on strategies aiming the potentiating effect of NGF on ASIC.

Le présent mémoire a fait l'objet des publications et communications suivantes.

Articles

Involvement of peripheral Nerve Growth Factor and Acid-Sensing Ion Channel 1A in colonic hypersensitivity

Matricon J., Gelot A., Müller E., Meleine M., Busserolles J., Voilley N., Eschalier A., Lazdunski M., Ardid D. & Bourdu S.

In preparation. Original article.

Spinal plasticity and Acid-Sensing Ion Channel involvement in colonic hypersensitivity

Matricon J., Gelot A., Etienne M., Lazdunski M. & Ardid D.

Accepted with revisions (European Journal of Pain). Original article.

T-type calcium channels contribute to colonic hypersensitivity in a rodent model of irritable bowel syndrome

Marger F., Gelot A., Alloui A., **Matricon J.**, Sanguesa Ferrer J.F., Barrere C., Nargeot J., Snutch T.P., Eschalier A., Bourinet E., Ardid D.

In preparation. Original article.

Peripheral and central mechanisms of visceral pain : insights on colonic pain

Matricon J., Gelot A. & Ardid D.

Douleurs (2010). Review (French)

Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease

Matricon J.

Médecine/Sciences (2010). Review (French)

Differential involvement of Acid-Sensing Ion Channel 1a in the basolateral amygdala in fear memory and unconditioned fear responses

Matricon J. & Grégoire S.

J Neurosci. (2009) 29:6053-6054. Journal Club

Experimental models for pelvic and perineal pain

Matricon J., Gelot A., Ardid D.

Douleur & Analgésie (2007) 20(3):173-179. Review (French)

Abstracts

Oral communications

"Involvement of Nerve Growth Factor and Acid-Sensing Ion Channels in a new model of colonic hypersensitivity in the rat"

-Symposium on Human Nutrition, 3rd December 2008, Clermont-Ferrand, France

-Academic research meeting, 27th November 2008, University of Auvergne, Clermont-Ferrand, France

-PhD students meeting, 16th May 2008, University of Auvergne and University Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France

Posters

"Acid-Sensing Ionic Channels and Nerve Growth Factor involvement in butyrate-induced colonic hypersensitivity in the rat"

-International Association for the Study of Pain, 17-22nd August 2008, Glasgow, Scotland

-3rd National congress in Physiology, Pharmacology and Therapeutics, 9-11th April 2008, Clermont-Ferrand, France, abstract published in Fundamental and clinical pharmacology, 2008, 22(1)

-21st International Symposium for Neuro-gastroenterology and Motility, 2-5th September 2007, Jeju Island, South Korea ; Outstanding poster award

"Acid-Sensing Ionic Channels involvement in butyrate-induced colonic hypersensitivity in the rat"

-Academic research meeting, 23rd November 2006, University of Auvergne, Clermont-Ferrand, France

LISTE DES ABREVIATIONS

5-HT : 5-hydroxytryptamine

ADT : antidépresseur tricyclique

AGCC : acide gras à chaîne courte

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

AMM : autorisation mise sur le marché

AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-méthyl
isoxatone propionate

ANCA : anti-neutrophil cytoplasmic
antibodies

ASCA : anti-*Saccharomyces cerevisiae*
antibodies

ASIC : acid sensing ion channel

BDNF : brain-derived neurotrophic factor

CaMK : calcium/calmodulin-dependent
protein kinases

CCK : cholécystokinine

CGRP : calcitonin gene-related peptide

CM : muscle circulaire

CMH : complexe majeur
d'histocompatibilité

CPA : cellule présentatrice d'antigène

CRH : corticotropin-releasing hormone

CRP : C-reactive protein

dNTP : déoxyribonucléoside 5'-
triphosphate

DRT : noyau dorso-réticulaire

FAP : fibres afférentes primaires

GABA : acide gamma-amino-butyrique

GR : récepteurs aux glucocorticoïdes

GRD : ganglions rachidiens dorsaux

GRE : élément de réponse des GR

HBD : human beta-defensin

HLA : human leukocyte antigen

HPRT : hypoxanthine-guanine
phosphoribosyltransferase

IASP : international association for the
study of pain

i.p. : intra-péritonéale

IR : immuno-réactif

ISRS : inhibiteur sélectif de la recapture
de la sérotonine

i.t. : intra-thécale

i.v. : intra-veineuse

IL : interleukine

IRS : inhibiteurs de la recapture de la
sérotonine

KI : knock in

KO : knock out

LC : locus coeruleus

LM : muscle lisse

LTP : long term potentiation

MC : maladie de Crohn

MEp : moëlle épinière

mGluR : récepteur métabotrope au
glutamate

MICI : maladie inflammatoire chronique
de l'intestin

MP : plexus myentérique

MPO : activité myéloperoxydasique

MSP : plexus sous-muqueux

MUC : mucine
NaCl 0,9% : sérum physiologique
NALCN : sodium leak channel, non selective
Nd : non détectable
NG : ganglions nodaux
NGF : nerve growth factor
NK : neurokinine
NMDA : N-méthyl-D-aspartate
NO : monoxyde d'azote
NOD2/CARD15 : nucleotide-binding oligomerization domain2 / caspase recruitment domain 15
NRM : noyau raphé magnus
NT : neutrophine
PAG : substance grise périaqueducule
PBN : noyau parabrachial
PBS : phosphate-buffered saline
PK : protéine kinase
PCR : polymerase chain reaction
p.o. : *per os*
RCH : rectocolite hémorragique
RCPG : récepteurs couplés aux protéines G
RT : reverse transcription
RVM : medulla rostroventrale
s.c. : sous-cutanée
SEM : écart standard à la moyenne
SERT : serotonin transporter
SI : système immunitaire
SII : syndrome de l'intestin irritable

SII-PI : SII post-infectieux
SME : système moteur émotionnel
SNA : système nerveux autonome
SNC : système nerveux central
SNE : système nerveux entérique
SNP : système nerveux périphérique
SP : substance P
TA : température ambiante
TBS : tris-buffered saline
TFI : trouble fonctionnel de l'intestin
TNBS : acide 2,4,6, trinitrobenzène sulfonique
TNF : tumor necrosis factor
trk : récepteur tyrosine kinase
TRP : transient receptor potential
TRPV1 : TRP vanilloïde 1
VGCC : voltage-gated calcium channel
VGSC : voltage-gated sodium channel
VIP : peptide vasoactif intestinal
WDR : neurones wide dynamic range

Sommaire

SOMMAIRE

SOMMAIRE	1
LISTE DES FIGURES.....	8
LISTE DES TABLEUX	10
INTRODUCTION GENERALE	11
CHAPITRE 1. PATHOLOGIES COLIQUES DOULOUREUSES.....	14
A. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	14
A.I. Description.....	14
A.I.1. Nosologie	14
<i>A.I.1.a. Définition clinique.....</i>	<i>14</i>
<i>A.I.1.b. Symptomatologie</i>	<i>17</i>
<i>A.I.1.c. Diagnostic</i>	<i>21</i>
<i>A.I.1.d. Poids économique et social</i>	<i>21</i>
A.I.2. Epidémiologie.....	22
<i>A.I.2.a. Incidence et prévalence</i>	<i>22</i>
<i>A.I.2.b. Co-morbidité</i>	<i>23</i>
A.II. Etiologie.....	24
A.II.1. Génétique.....	24
<i>A.II.1.a. Etudes familiales.....</i>	<i>24</i>
<i>A.II.1.b. Etudes d'association et de liaison génétiques</i>	<i>25</i>
<i>A.II.1.c. Gènes candidats</i>	<i>28</i>
A.II.2. Environnement biologique.....	29
<i>A.II.2.a. Limites des données génétiques</i>	<i>29</i>
<i>A.II.2.b. Infections</i>	<i>30</i>
<i>A.II.2.c. Flore bactérienne commensale</i>	<i>30</i>
A.II.3. Environnement socio-psycho-culturel	31
<i>A.II.3.a. Mode de vie</i>	<i>31</i>
<i>A.II.3.b. Soins médicaux</i>	<i>33</i>
A.III. Traitements.....	33
A.III.1. Stratégies thérapeutiques	33
A.III.2. Traitements non pharmacologiques	34
<i>A.III.2.a. Diète et hygiène de vie</i>	<i>34</i>

A.III.2.b. Chirurgie	35
A.III.2.c. Pro-et pré-biotiques	36
A.III.3. Traitements pharmacologiques	37
A.III.3.a. Antibiotiques	37
A.III.3.b. Modulateurs de la réponse inflammatoire	37
A.III.4. Traitements alternatifs	40
B. Syndrome de l'intestin irritable	41
B.I. Description	41
B.I.1. Nosologie	41
B.I.1.a. Définition clinique	41
B.I.1.b. Symptomatologie	42
B.I.1.c. Diagnostic	43
B.I.1.d. Poids économique et social	44
B.I.2. Epidémiologie	45
B.I.2.a. Incidence et prévalence	46
B.I.2.b. Morbidité	47
B.II. Etiologie	47
B.II.1. Génétique	48
B.II.1.a. Etudes familiales	48
B.II.1.b. Etudes d'association et de liaison génétiques	48
B.II.2. Environnement biologique	49
B.II.2.a. Infections	49
B.II.2.b. Dysbiose	49
B.II.3. Environnement socio-psycho-culturel	50
B.II.3.a. Régime alimentaire	50
B.II.3.b. Troubles psychologiques	50
B.III. Traitements	51
B.III.1. Stratégies thérapeutiques	51
B.III.2. Traitements non pharmacologiques	52
B.III.2.a. Diète et hygiène de vie	52
B.III.2.b. Pro- et pré-biotiques	53
B.III.3. Traitements pharmacologiques	54
B.III.3.a. Agents affectant le transit intestinal	54
B.III.3.b. Modulateurs sérotoninergiques	55
B.III.3.c. Médicaments en cours d'évaluation clinique	56

B.III.4. Traitements alternatifs.....	58
C. Mini-synthèse #01	61
CHAPITRE 2. MECANISMES DE L'HYPER-SENSIBILITE VISCERALE	64
A. Côlon.....	65
A.I. Perte d'homéostasie de la flore commensale	65
A.I.1. Dysbiose	66
<i>A.I.1.a. Flore commensale</i>	<i>66</i>
<i>A.I.1.b. Déséquilibre de la flore commensale.....</i>	<i>66</i>
<i>A.I.1.c. Effets physiologiques</i>	<i>67</i>
A.I.2. Bactériophages	68
A.I.3. Perméabilisation de la barrière épithéliale	68
A.I.4. Translocation bactérienne excessive	69
A.I.5. Perte de tolérance à la flore commensale.....	70
A.II. Dérégulation de la réponse immunitaire intestinale	70
A.II.1. Système immunitaire intestinal.....	70
A.II.2. Dysfonction de l'immunité innée.....	73
<i>A.II.2.a. Infections</i>	<i>73</i>
<i>A.II.2.b. Réponses de la barrière épithéliale</i>	<i>73</i>
A.II.3. Dysfonction de l'immunité adaptative.....	76
A.III. Interactions neuro-immunitaires	79
A.III.1. Système nerveux entérique.....	79
<i>A.III.1.a. Organisation du tissu intestinal.....</i>	<i>80</i>
<i>A.III.1.b. Innervation</i>	<i>81</i>
<i>A.III.1.c. Axe cerveau-intestin</i>	<i>85</i>
A.III.2. Troubles sensoriels périphériques	86
A.III.3. Troubles moteurs	86
A.III.4. Inflammation neurogène	88
<i>A.III.4.a. Infiltration mucosale de cellules immunitaires.....</i>	<i>88</i>
<i>A.III.4.b. Contacts immuns aux terminaisons nerveuses.....</i>	<i>89</i>
<i>A.III.4.c. Sensibilisation périphérique</i>	<i>90</i>
A.IV. Mini-synthèse #02	91
B. Ganglion spinal.....	95
B.I. Nocicepteurs.....	96
<i>B.I.1.a. Définition.....</i>	<i>96</i>
<i>B.I.1.b. Profil neuro-chimique des nocicepteurs.....</i>	<i>96</i>

B.II. Sensibilisation périphérique	97
B.II.1. Signalisation sensorielle.....	98
B.II.2. Neuro-plasticité des nocicepteurs	98
<i>B.II.2.a. Canaux ioniques</i>	<i>99</i>
<i>B.II.2.b. Médiateurs inflammatoires et leurs récepteurs</i>	<i>103</i>
B.III. Neuro-dégénération.....	108
C. Moëlle épinière.....	111
C.I. Neurophysiologie spinale	111
C.I.1. Organisation fonctionnelle	111
<i>C.I.1.a. Couches spinales</i>	<i>111</i>
<i>C.I.1.b. Types de neurones spinaux.....</i>	<i>113</i>
<i>C.I.1.c. Projections vers les neurones de troisième ordre</i>	<i>114</i>
C.I.2. Premiers neurones centraux (de second ordre).....	115
<i>C.I.2.a. Définition.....</i>	<i>115</i>
<i>C.I.2.b. Neuro-médiateurs libérés dans la MEp</i>	<i>116</i>
<i>C.I.2.c. Récepteurs pré-synaptiques.....</i>	<i>116</i>
<i>C.I.2.d. Récepteurs post-synaptiques</i>	<i>116</i>
C.II. Sensibilisation centrale spinale	117
C.II.1. Neuro-plasticité	118
C.II.2. Hyper-excitabilité spinale dans les MICI et le SII	121
D. Influences modulatrices de la nociception viscérale	123
D.I. Structures supra-spinales.....	124
D.I.1. Voies ascendantes de la douleur	124
<i>D.I.1.a. Afférences vagales</i>	<i>124</i>
<i>D.I.1.b. Afférences spinales</i>	<i>125</i>
D.I.2. Voies descendantes modulant la douleur	126
D.I.3. Structures cortico-limbiques.....	126
D.I.4. Régulation supra-spinale de la douleur viscérale.....	127
<i>D.I.4.a. Inhibition endogène de la douleur.....</i>	<i>127</i>
<i>D.I.4.b. Processus cognitifs.....</i>	<i>128</i>
D.II. Stress	128
D.II.1. Effets du stress sur l'axe HPA.....	129
D.II.2. Effets du stress sur la sensibilité viscérale.....	130
D.III. Influence des hormones sexuelles sur l'HSV	132
<i>D.III.1.a. Douleurs chroniques coliques.....</i>	<i>132</i>

D.III.1.b. Mécanismes des différences de genre	134
D.IV. Mini-synthèse #03	135
SYNTHESE	137
OBJECTIFS	140
CHAPITRE 3. MATERIEL ET METHODES	142
A. Hygiène et sécurité	142
B. Techniques comportementales	144
B.I. Animaux.....	144
B.II. Plan expérimental.....	144
B.III. Induction de l'hyper-sensibilité colique	145
B.IV. Evaluation de la sensibilité colique.....	146
B.IV.1. Procédure de distension colo-rectale.....	146
B.IV.2. Méthode de scoring de Al-Chaer	147
B.IV.3. Mise au point de la méthode de scoring	148
B.V. DCR nocive répétée pour induire l'expression de la protéine Fos.....	150
B.VI. Traitements pharmacologiques <i>in vivo</i>	150
B.VII. Mesures de pH colique.....	151
B.VII.1. Détermination du pH luminal <i>in vivo</i>	151
B.VII.2. Détermination du pH muqueux <i>in vitro</i>	151
C. Techniques moléculaires	152
C.I. Etude du niveau d'expression des ARNm	152
C.I.1. Prélèvements de GRD et de MEp.....	152
C.I.2. Extraction et analyse des ARN	152
C.I.3. Transcription inverse.....	154
C.I.4. Bio-informatique.....	154
C.I.5. PCR semi-quantitative	156
C.I.6. PCR en temps réel.....	157
C.II. Western blotting	158
D. Techniques histologiques.....	159
D.I. Hybridation <i>in situ</i>	159
D.II. Immunohistochimie (système peroxydase)	160
D.II.1. Prélèvements et fixation des tissus.....	160
D.II.2. Inclusion en paraffine et coupes	161
D.II.3. Immuno-marquage en système peroxydase	162
D.II.4. Analyse des images.....	162

D.III. Immuno-fluorescence	165
D.III.1. Co-localisation Fos-ASIC1a dans la MEp	165
D.III.2. Co-localisation confocale ASIC-NGF-trkA.....	165
E. Statistiques.....	166
CHAPITRE 4. RESULTATS.....	168
A. Mécanismes périphériques de l'HSC	168
A.I. Implication périphérique du NGF	168
A.I.1. Prévention de l'HSC par les anticorps anti-NGF	168
A.I.2. Sur-expression du NGF dans l'HSC.....	169
<i>A.I.2.a. Sur-expression des ARNm NGF (GRD)</i>	<i>169</i>
<i>A.I.2.b. Sur-expression de la protéine NGF (GRD - côlon)</i>	<i>170</i>
A.II. Implication périphérique des canaux ASIC	171
A.II.1. Prévention de l'HSC par le blocage des ASIC	172
A.II.2. Sur-expression des ASIC dans l'HSC	173
<i>A.II.2.a. Sur-expression des ARNm ASIC1 (GRD).....</i>	<i>173</i>
<i>A.II.2.b. Neurones sensoriels exprimant les ARNm ASIC.....</i>	<i>174</i>
<i>A.II.2.c. Sur-expression de la protéine ASIC1</i>	<i>175</i>
A.II.3. Acidification colique induite par le butyrate	179
A.III. Modulation de l'expression de ASIC1 par le NGF	180
A.III.1. Co-expression de ASIC1a, du NGF et de trkA.....	180
A.III.2. Prévention de la sur-expression ASIC1 par les anti-NGF	180
B. Mécanismes centraux de l'HSC.....	186
B.I. Hyper-activation de la MEp dans l'HSC.....	186
B.I.1. Modification de l'expression basale de Fos.....	187
B.I.2. Recrutement de la MEp thoracique dans l'HSC	187
B.II. Implication centrale des ASIC.....	190
B.II.1. Prévention de l'HSC par l'antagoniste PcTx1.....	191
B.II.2. Co-expression de ASIC1a et de Fos.....	192
B.III. Autres molécules potentiellement impliquées au niveau central.....	194
B.III.1. Autres isoformes ASIC	194
B.III.2. Implication centrale du NGF.....	195
<i>B.III.2.a. Expression du gène NGF dans la MEp.....</i>	<i>195</i>
<i>B.III.2.b. Modulation de l'expression de ASIC1 par le NGF.....</i>	<i>195</i>
B.III.3. Implication des canaux CaV3.2 et NALCN.....	197

CHAPITRE 5. DISCUSSION	202
A. Mécanismes initiateurs de l'HSC.....	202
A.I. Origine et rôle du butyrate dans l'HSC	202
A.II. Origine et rôle du NGF colique dans l'HSC	206
B. Mécanismes périphériques de l'HSC	208
B.I. Implication du NGF dans le modèle butyrate.....	208
B.II. Mécanismes d'action du NGF.....	209
B.III. Implication des canaux ASIC dans le modèle butyrate.....	211
B.IV. Modulation périphérique des ASIC par le NGF	216
C. Mécanismes centraux de l'HSC.....	217
C.I. Augmentation de l'activité tonique et de l'activité phasique de la MEp thoracique dans le modèle butyrate	217
C.II. Mécanismes présumés de l'hyper-activité et de l'hyper-réactivité de la MEp thoracique dans le modèle butyrate	217
C.III. Implication centrale des canaux ASIC.....	220
C.IV. Rôle du NGF dans la sensibilisation centrale.....	223
D. Vers une meilleure compréhension de la physio-pathologie du SII?.....	226
E. Conclusion	231
GLOSSAIRE	232
REFERENCES.....	242

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Phénotypes clinico-pathologiques de la MC (A) et de la RCH (B).....	16
Figure 2. Manifestations extra-intestinales des MICI.....	18
Figure 3. Caractéristiques anatomo-pathologiques des MICI.....	19
Figure 4. Facteurs de risque des MICI.....	24
Figure 5. Evaluation clinique du SII.....	45
Figure 6. Stratégies thérapeutiques dans le SII.....	51
Figure 7. Rôles respectifs de l'environnement et des gènes dans les MICI et le SII.....	62
Figure 8. Niveaux anatomiques où s'opèrent les mécanismes de l'HSV.....	64
Figure 9. Mécanismes de défense de la barrière épithéliale intestinale.....	69
Figure 10. Réponse immunitaire du tissu lymphoïde associé à l'intestin.....	72
Figure 11. Vascularisation, innervation et structure de la paroi digestive.....	80
Figure 12. Afférences et efférences nerveuses intestinales.....	83
Figure 13. Efférences du tractus gastro-intestinal.....	84
Figure 14. Immuno-pathogénèse des MICI.....	92
Figure 15. Type de pathologie se développant en fonction du statut inflammatoire.....	94
Figure 16. Terminaisons des fibres C dans la corne dorsale de la MEp.....	97
Figure 17. Bases moléculaires périphériques de la signalisation viscérale.....	100
Figure 18. Récepteurs aux neurotrophines et voies de signalisation intra-cellulaire.....	106
Figure 19. Mécanismes de sensibilisation périphérique impliquant le NGF et le TRPV1.....	110
Figure 20. Organisation de la MEp.....	113
Figure 21. Voies nociceptives spinales ascendantes.....	115
Figure 22. Mécanismes moléculaires de la PLT.....	120
Figure 23. Mécanismes de sensibilisation à la première synapse centrale.....	122
Figure 24. Interactions entre structures nociceptives supra-spinales.....	125
Figure 25. Axe hypothalamo-adréno-pituitaire.....	129
Figure 26. Circuits cérébraux activés par des stimuli viscéraux et cognitifs.....	134
Figure 27. Modèle bio-comportemental de l'HSC.....	136
Figure 28. Chronologie de la survenue des facteurs étiologiques des MICI et du SII.....	139
Figure 29. Induction de l'hyper-sensibilité colique par l'instillation répétée de butyrate...	145
Figure 30. Crampes abdominales.....	146
Figure 31. Programmes de distension utilisés pour l'évaluation de l'HSC chez le rat.....	147

Figure 32. Différents comportements traduisant une douleur viscérale.	149
Figure 33. Analyse des ARN par le Bio-Analyseur.	154
Figure 34. Méthode des ΔCt	157
Figure 35. Interface Lucia G et mesures des sections transversales des neurones	163
Figure 36. Seuillage de l'intensité de marquage ASIC1 dans les neurones sensoriels ...	164
Figure 37. Seuillage de l'intensité de marquage Fos dans les neurones spinaux.....	164
Figure 38. Le traitement anti-NGF diminue l'HSC dans le modèle butyrate.....	169
Figure 39. Sur-expression des ARNm du gène NGF dans les GRD des rats butyrate. ...	170
Figure 40. Sur-expression de la protéine NGF dans les GRD des rats butyrate.....	171
Figure 41. L'HSC induite par le butyrate est diminuée par l'amiloride	173
Figure 42. Sur-expression des ARNm ASIC1a et 1b dans les GRD des rats butyrate	174
Figure 43. Marquage des ARNm ASIC1a par hybridation <i>in situ</i>	175
Figure 44. Le canal ASIC1a est exprimé dans le côlon des rats.....	176
Figure 45. Sur-expression des protéines ASIC1 dans les GRD des rats butyrate	177
Figure 46. Sur-expression de ASIC1 dans les nocicepteurs des rats butyrate	178
Figure 47. Diminution du pH colique des rats butyrate	179
Figure 48. Colocalisation du canal ASIC1a avec le NGF et son récepteur trkA.....	181
Figure 49. Sur-expression des ARNm 1a dans les GRD après traitement anti-NGF	182
Figure 50. Prévention de la sur-expression de ASIC1 par traitement anti-NGF (IHC)	183
Figure 51. Prévention de la sur-expression de ASIC1a par traitement anti-NGF (WB) ...	184
Figure 52. Sur-expression de Fos dans la MEp des rats butyrate après DCR.....	188
Figure 53. Recrutement de la MEp thoracique par DCR répétée chez les rats butyrate .	190
Figure 54. Diminution de l'HSC induite par le butyrate suite à l'injection i.t. de PcTx1	191
Figure 55. Co-expression de ASIC1a et de Fos dans la MEp des rats butyrate	193
Figure 56. Sur-expression spinale des ARNm ASIC1a, 2a et 2b chez les rats butyrate..	195
Figure 57. Niveau d'expression spinal inchangé des ARNm NGF chez les rats butyrate	196
Figure 58. Prévention de la sur-expression spinale de ASIC1a par traitement anti-NGF	196
Figure 59. Prévention de la sur-expression spinale de ASIC1a par traitement anti-NGF	197
Figure 60. Implication du canal Cav3.2 dans l'HSC induite par le butyrate.....	199
Figure 61. Diminution de l'HSC par les antisens du canal sodique NALCN.....	200
Figure 62. Mécanismes physio-pathologiques putatifs de l'HSC dans le SII.	227

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Critères de Vienne et de Montréal.	15
Tableau II. Symptomatologie des MICI.	20
Tableau III. Diagnostic différentiel des MICI.	21
Tableau IV. Régions chromosomiques associées au risque de développer une MICI.	25
Tableau V. Loci chromosomiques associés au risque de développer une MICI.	26-27
Tableau VI. Agents infectieux suspectés dans l'étiopathogenèse des MICI.	31
Tableau VII. Stratégies thérapeutiques dans les MICI.	34
Tableau VIII. Stratégie chirurgicale en fonction du type de complication des MICI.	35
Tableau IX. Différentes approches du traitement des MICI.	39
Tableau X. Effets indésirables dans les différents traitements des MICI.	40
Tableau XI. Critères diagnostiques du SII.	44
Tableau XII. Différentes approches du traitement du SII.	60
Tableau XIII. Structure, classification et implication des chimiokines dans les MICI.	78
Tableau XIV. Modèles animaux de MICI et de SII.	93
Tableau XV. Caractéristiques épidémiologiques et étiologiques dans les MICI et le SII.	138
Tableau XVI. Liste des primers utilisés pour la PCR.	155
Tableau XVII. Conditions de cycle pour la PCR.	156
Tableau XVIII. Densité de noyaux immuno-réactifs pour Fos dans la MEp après DCR.	189

Introduction

INTRODUCTION GENERALE

La douleur aiguë est une expérience sensorielle indispensable à la protection de l'organisme¹. Elle assure la détection des stimulations susceptibles de menacer l'intégrité physique de l'individu et prévient ainsi la survenue d'une atteinte mécanique (trauma), thermo-chimique (brûlure) ou biologique (parasite, agent infectieux, cellule cancéreuse). La douleur aiguë participe au système de défense de l'organisme en déclenchant une réaction réflexe visant à se rétracter d'un stimulus nociceptif ou en déclenchant une réaction adaptée permettant l'ajustement du comportement à de futures situations à risque². De plus, la douleur peut caractériser un état inflammatoire du tissu lésé qui s'accompagne de la libération de médiateurs chimiques contribuant à la destruction des agents pathogènes et à la réparation tissulaire.

Suite au processus inflammatoire, la douleur aiguë normalement associée à une blessure ou à une maladie peut se maintenir bien que la lésion initiale ait disparue. Ce mécanisme de chronicisation s'accompagne d'une hyper-sensibilité qui se traduit par des sensations douloureuses provoquées par des stimuli habituellement indolores (allodynie) et par une exacerbation de la douleur ressentie (hyperalgie). La douleur suit alors un décours pathologique chronique très invalidant physiquement et moralement.

S'il existe une prise en charge efficace des douleurs aiguës par des médicaments validés historiquement (opioïdes, paracétamol, anti-inflammatoires non stéroïdiens), le traitement des douleurs chroniques reste insuffisant. D'abord parce que les antalgiques existants agissent sur des cibles moléculaires non spécifiques et induisent de nombreux effets indésirables. Ensuite, parce que les mécanismes physio-pathologiques de la douleur chronique sont encore largement méconnus.

1 La douleur est définie par l'International Association for the Study of Pain (IASP) comme "une sensation désagréable et une expérience émotionnelle en réponse à une atteinte tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en ces termes"

2 Ce mécanisme n'existe pas chez les patients atteints d'insensibilité congénitale à la douleur (génétiquement déficients pour le canal sodique SCNA9A-Nav1.7 ou pour le récepteur trkA du facteur de croissance nerveuse NGF). Ils sont donc contraints à une attention de tous les instants et à de fréquentes inspections corporelles afin de vérifier qu'ils ne se sont pas blessés par mégarde.

Cette problématique est plus marquée pour les douleurs viscérales que pour les douleurs somatiques. En effet, les douleurs somatiques prennent leur origine dans le tissu tegumentaire, les muscles squelettiques et les articulations. Ces territoires, leur innervation, leur physiologie et les causes initiatrices des lésions sont assez bien identifiés ce qui facilite la recherche d'antalgiques spécifiques de chaque type de douleur (inflammation, neuropathie post-traumatique, neuropathie diabétique, neuropathie chimio-induite). En revanche, les douleurs viscérales sont souvent diffuses et irradiantes. De ce fait, leur caractérisation est imprécise et la douleur peut se confondre avec la gêne ou l'inconfort. Mal définies, les douleurs viscérales restent mal comprises et les traitements proposés ciblent plus souvent les symptômes contribuant à la douleur que ses causes réelles.

Parmi les douleurs viscérales chroniques, les douleurs coliques sont les plus fréquentes. La douleur colique est un symptôme cardinal de la maladie de Crohn (MC) et de la recto-colite hémorragique (RCH), qui sont des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), et des troubles fonctionnels de l'intestin (TFI) tels que le syndrome de l'intestin irritable (SII).

L'étiologie des MICI et du SII n'est pas complètement connue. Cependant, alors que les caractéristiques inflammatoires claires des MICI ont permis l'exploration de leur physio-pathologie ces dernières années en pointant de nouvelles cibles moléculaires (NOD2/CARD15, TNF α), l'absence d'anomalie anatomique ou biochimique dans le SII n'a pas permis de trouver d'explication à l'hyper-sensibilité viscérale (HSV) observée chez les patients.

Toutefois, il semble que les MICI et le SII pourraient être des maladies intestinales inter-dépendantes. En effet, des patients atteints de MICI présentent des symptômes similaires à ceux du SII pendant les phases de rémission (Simren et al., 2002) tandis qu'une inflammation colique chronique de faible intensité est rapportée chez certains patients atteints de SII (Spiller, 2003b). Ces données ont conduit à l'hypothèse que les symptômes du SII et des MICI forment un continuum physio-pathologique, le SII étant une forme sub-clinique des MICI (MICI en rémission ou latente).

L'existence d'une base étiologique commune ou, du moins, de mécanismes physio-pathologiques communs aux MICI et au SII pourrait ainsi ouvrir sur une voie de recherche potentiellement intéressante. En identifiant des facteurs de risque communs et des voies moléculaires et/ou cellulaires convergentes, la mise en évidence de nouveaux facteurs

déclenchant l'HSV et de nouvelles cibles thérapeutiques devient envisageable.

Dans une première partie bibliographique, nous présenterons tout d'abord les MICI et le SII puis les mécanismes de l'HSV associée à ces états douloureux chroniques. Les éléments physio-pathologiques communs tels que facteurs de risque, gènes causaux et interactions neuro-immunitaires seront mis en exergue et discutés grâce à l'apport des modèles animaux.

Une deuxième partie sera consacrée à la description des protocoles expérimentaux utilisés et des résultats obtenus sur le modèle butyrate, un modèle animal de SII développé au laboratoire du Pr. Alain Eschalier (Bourdu et al., 2005). Ces résultats décriront : (1) le rôle du NGF (nerve growth factor) et des canaux sensibles à l'acidité (canaux ASIC) dans le développement de l'HSV induite par le butyrate et (2) l'implication de la moëlle épinière (MEp) thoracique dans son expression.

La troisième partie de ce mémoire discutera l'apport de ces résultats à la compréhension des mécanismes périphériques et centraux de l'HSV et développera les perspectives que l'on peut en attendre pour le traitement du SII.

Revue bibliographique

CHAPITRE 1. PATHOLOGIES COLIQUES DOULOUREUSES

Les deux principaux types de pathologies intestinales chroniques rencontrés en gastro-entérologie diffèrent par leur nature anatomo-pathologique. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin telles que la MC et la RCH se caractérisent par des atteintes coliques inflammatoires. En revanche, les TFI sont des troubles fonctionnels de l'œsophage (douleur thoracique non angineuse ou syndrome de l'œsophage irritable), de l'estomac (dyspepsie) ou du côlon (SII) sans atteinte inflammatoire. Ce premier chapitre bibliographique est consacré aux descriptions clinique, épidémiologique et étiologique des affections coliques (MC, RCH et SII) et vise à dégager des caractéristiques communes en termes de symptomatologie, de facteurs de risques et d'étiologie.

A. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

A.I. Description

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) forment un groupe de conditions inflammatoires de l'intestin grêle et du côlon. Les deux principales formes de MICI sont la MC et la RCH. Les autres formes sont la colite collagénique, la colite lymphocytaire, la colite ischémique, la diverticulite, le syndrome de Behçet, la colite infectieuse et la colite essentielle (ou indéterminée).

A.I.1. Nosologie

A.I.1.a. Définition clinique

Historique

La MC (ou colite granulomateuse ou entérite régionale) fut découverte par Wilhelm

Fabry en 1623. Décrite pour la première fois par Antoni Lesniowski en 1904, le gastro-entérologue américain Burril Crohn lui donna son nom en 1932 après avoir décrit 14 cas d'une affection appelée alors "iléite terminale ou régionale" et localisée à la moitié terminale de l'iléon. La RCH fut différenciée de la dysenterie bactérienne en 1859 par Samuel Wilks puis décrite par Arthur Hirst en 1931.

Définition

La MC et la RCH sont des maladies inflammatoires, chroniques et intermittentes de l'intestin. Bien que partageant un phénotype clinico-pathologique similaire, la MC et la RCH diffèrent par la localisation de l'inflammation dans le tractus gastro-intestinal et la nature des atteintes immunologiques et histologiques. Anatomiquement, la MC peut toucher l'ensemble du tractus gastro-intestinal de la bouche à l'anus. La RCH se restreint au niveau recto-colique. Microscopiquement, la MC est transmurale tandis que la RCH ne touche que la muqueuse intestinale (Podolsky, 2002).

Classification

Des critères ont été établis afin de différencier les phénotypes de la MC selon l'âge de survenue de la maladie (A), les signes cliniques (B) et la localisation de la maladie (L) (Tableau I). Ces critères ont d'abord été évalués en 1998 à Vienne (critères de Vienne) (Gasche et al., 2000) et revus dans un second temps à Montréal (critères de Montréal).

Classifications de Vienne et de Montréal pour la Maladie de Crohn		
	Vienne	Montréal
Âge de diagnostic	A1 : < 40 ans A2 : > 40 ans	A1 : < 16 ans A2 : 17 < âge < 40 ans A3 : > 40 ans
Localisation	L1 : iléal L2 : côlon L3 : iléo-colique L4 : au-dessus du gros intestin	L1 : iléal L2 : côlon L3 : iléo-colique L4a : isolé et au-dessus du gros intestin
Intensité	B1 : non-sténosant, non-pénétrant B2 : sténosant B3 : pénétrant	B1 : non-sténosant, non-pénétrant B2 : sténosant B3 : pénétrant Pb : atteinte périanale

a L4 : peut être associé à L1 à 3 en cas d'atteinte concomitante du gros intestin.

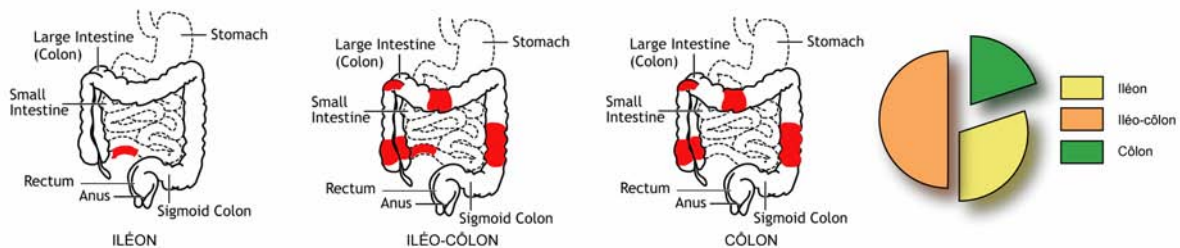
b P : peut être associé à B1 à 3 en cas d'atteinte concomitante.

Tableau I. Critères de Vienne et de Montréal. D'après Lamoril *et al.*, 2007. La MC peut être définie par une classification prenant en compte l'âge de diagnostic, la localisation de l'atteinte et l'intensité de l'inflammation (ex. patient A1L2B2).

Globalement, la MC est catégorisée en trois grandes classes en fonction du lieu d'inflammation : (1) la MC iléo-colique atteint à la fois l'iléon terminal et le gros intestin, (2) l'iléite de Crohn touche uniquement l'iléon et (3) la colite de Crohn n'atteint que le gros intestin (Figure 1). Même si la maladie peut affecter toute la longueur du tractus gastro-intestinal, seules quelques exceptions touchent l'estomac et l'œsophage. Cette classification est complétée par l'évaluation de l'activité de la maladie¹ via l'indice d'activité de la MC (le CDAI) et par la nature de l'atteinte inflammatoire. Selon la nature de la réponse immunitaire du patient, ces différentes formes cliniques évoluent vers un statut non perforant se limitant à des obstructions et des saignements ou perforant avec le développement d'abcès et de perforations nécessitant la chirurgie (Gilberts et al., 1994).

Il existe trois phénotypes clinico-pathologiques de la RCH selon que l'inflammation atteint : (1) le côlon entier, (2) le côlon, de la flexure gauche au rectum ou (3) le rectum et le côlon sigmoïde (Figure 1) (Baumgart and Sandborn, 2007).

A. MALADIE DE CROHN



B. RECTO-COLITE HÉMORRAGIQUE

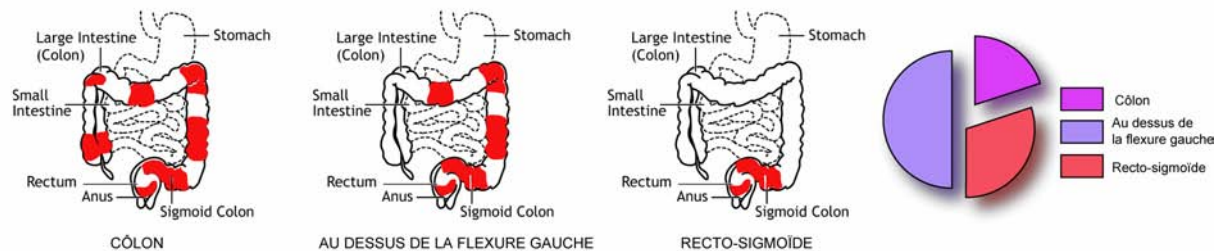


Figure 1. Phénotypes clinico-pathologiques de la MC (A) et de la RCH (B). En fonction de la localisation de l'atteinte inflammatoire, on distingue plusieurs types de MC et de recto-colite hémorragique dont les prévalences sont différentes (diagrammes circulaires).

¹ L'indice d'activité permet de classer les patients en fonction de la gravité de l'atteinte inflammatoire. Atteinte faible à modérée pour des patients ambulatoires capables de s'alimenter normalement sans manifester de déshydratation, de perte de poids ou de symptôme intestinal. Atteinte modérée à sévère en cas d'échec des traitements de première intention, de fièvre, de perte de poids et de symptômes intestinaux. Atteinte sévère à fulminante en cas de fièvre forte, de cachexie et de symptômes intestinaux prononcés persistant sous traitement par des corticostéroïdes.

La MC touchant le côlon dans 50% des cas, une bonne connaissance de la symptomatologie est indispensable afin de la différencier de la RCH.

A.I.1.b. Symptomatologie

Signes cliniques

La MC et la RCH peuvent survenir à n'importe quel âge mais la courbe de l'âge d'apparition a une allure bimodale, avec un maximum de 15 à 30 ans et un second pic de 50 à 70 ans. Le diagnostic est généralement établi chez le jeune adulte, souvent plusieurs années après l'apparition des premiers symptômes en raison de l'alternance de périodes de rechute et de rémission.

Le principal symptôme des MICI est la présence de douleurs abdominales de type crampe. Ces douleurs sont souvent situées dans les zones sténosées de l'intestin et ne sont pas soulagées par la défécation. Elles peuvent s'accompagner de vomissements et de diarrhées chroniques pouvant être sanglantes.

Les autres symptômes intestinaux sont les ballonnements, les flatulences, l'hématochézie, l'inconfort anal (douleur, démangeaisons, abcès, fistule, fissure), l'incontinence fécale, la présence d'ulcères aphteux buccaux et les douleurs œsophagiennes et abdominales hautes. Les MICI présentent de nombreuses manifestations extra-intestinales ostéo-articulaires, hépato-biliaires, oculaires ou cutanées (Figure 2) (Danese et al., 2005).

Enfin, les MICI peuvent s'accompagner de symptômes systémiques tels que défaut de croissance chez l'enfant, retard de croissance chez l'adolescent, fièvre, fatigue chronique et perte de poids (O'Keefe, 1996).

Signes anatomo-pathologiques

Les biopsies, les techniques d'endoscopie et d'imagerie (radiographie, imagerie par résonance magnétique IRM, ultrasons) ont permis de décrire les atteintes organiques des patients présentant une MICI (Baumgart and Sandborn, 2007).

Dans la MC, la muqueuse est friable et érythémateuse avec une perte de vascularisation et une hyperplasie lymphoïde dans l'iléon terminal. Au niveau du côlon, des ulcérations et des abcès sont observables. L'inflammation transmurale est associée au développement d'agrégats lymphoïdes et de granulomes (Figure 3).

Dans la RCH, le côlon des patients atteints de RCH est faiblement vascularisé et présente des ulcérations très nombreuses souvent aphtoïdes ou profondes (fissures), des pseudo-polypes et des hémorragies. En cas de maladie active, la RCH s'accompagne de la formation de cryptes et d'abcès consécutive à l'infiltration de neutrophiles et de monocytes (Figure 3).

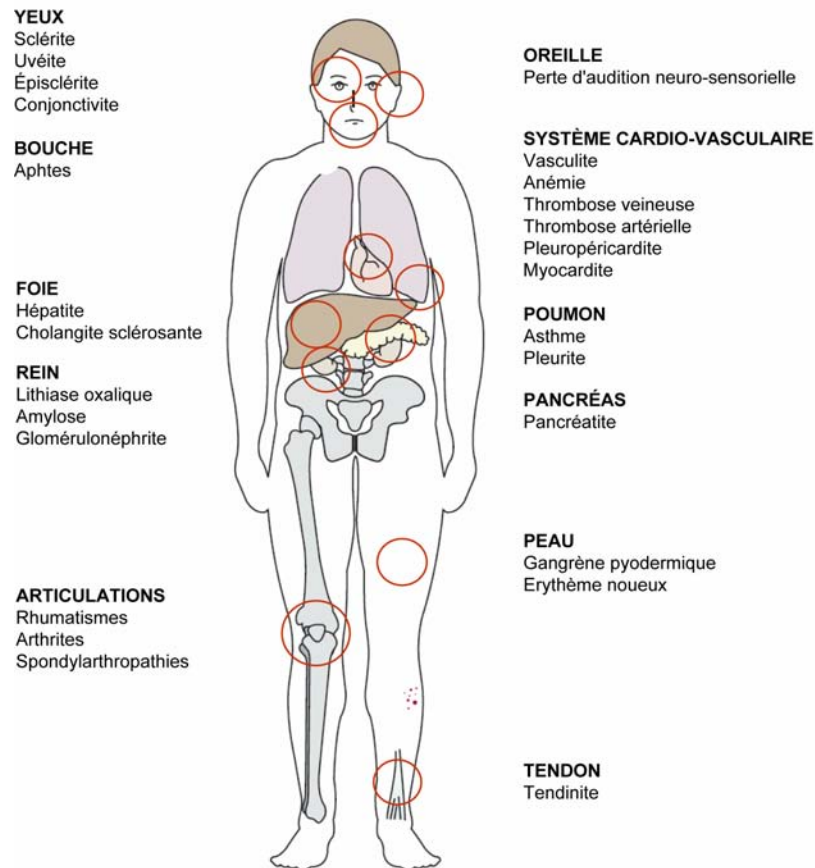


Figure 2. Manifestations extra-intestinales des MICI. Adapté de Baumgart & Sandborn, 2007.

Dosages biochimiques

La concentration fécale de calprotectine permet d'établir le diagnostic de MICI. Cette concentration est corrélée au degré d'activité de la maladie (Gaya et al., 2005).

La RCH est associée à une plasmacytose basale et à l'activation de la réponse immunitaire humorale (Bitton et al., 2001). Une production anormale d'immunoglobulines est retrouvée dans la MC. Les dosages sériques mettent en évidence les marqueurs inflammatoires classiques dans les MICI (protéine C-réactive, $\text{TNF}\alpha$, IL6, histamine...). Le dosage des cytokines circulantes révèle un taux élevé d'IL2, IL12, $\text{TNF}\alpha$ et $\text{INF}\gamma$ dans la MC et d'IL4, IL5 et IL13 dans la RCH (McClane and Rombeau, 1999). La présence d'anticorps dirigés contre des protéines microbiennes est fréquente dans les lésions coliques des patients atteints de MC (Sheikh et al., 2008).

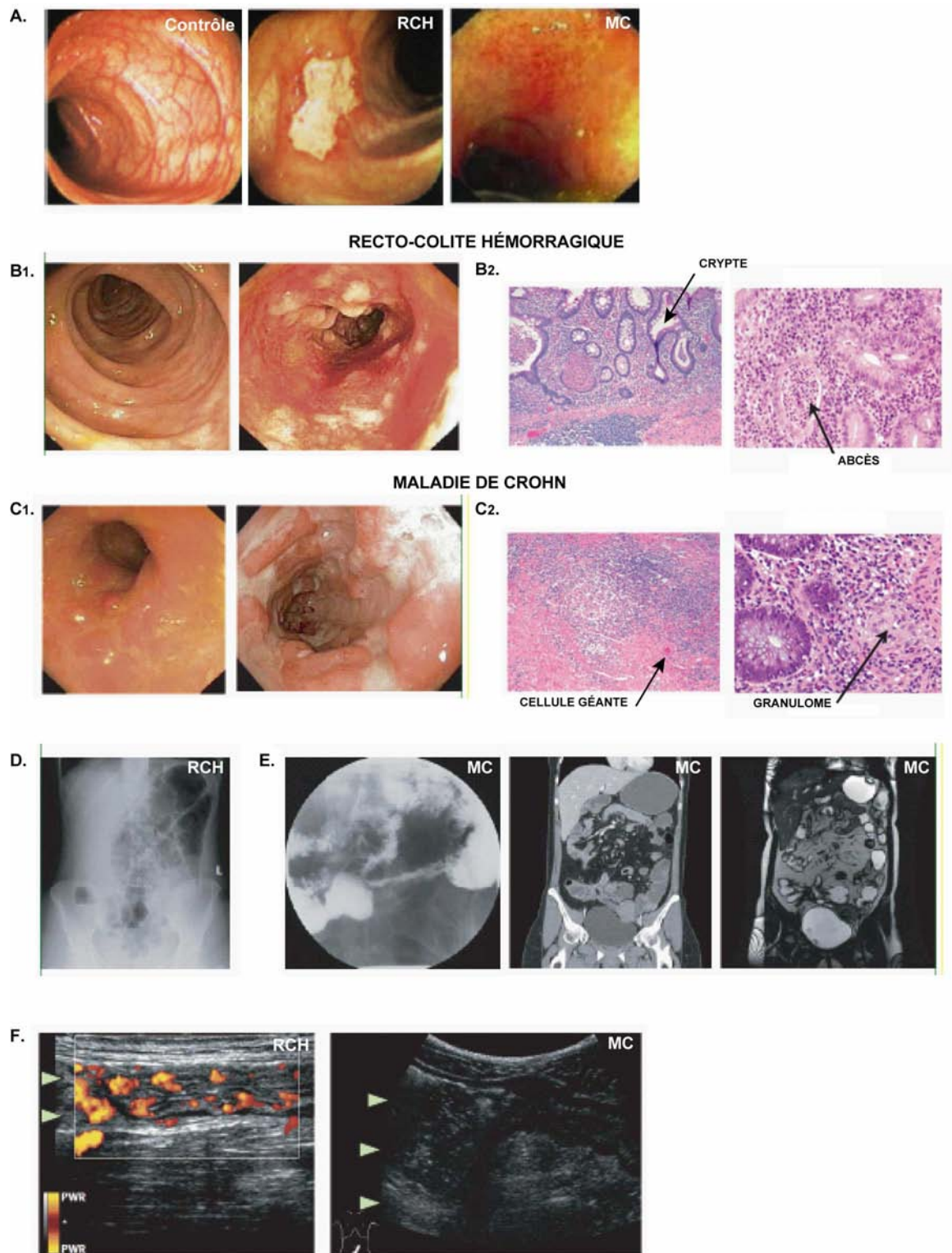


Figure 3. Caractéristiques anatomo-pathologiques des MICI. Adapté de Baumgart & Sandborn, 2007 ; Xavier & Podolsky, 2007. L'endoscopie révèle des atteintes de la muqueuse colique chez les patients par rapport à des individus sains (A), caractérisées par une pan-colite avec des ulcérations et des polypes dans la RCH (B1) et par un amincissement de la muqueuse et des hyperplasies dans la MC (C1). La coloration des biopsies par hématoxyline-éosine montre une désorganisation de la muqueuse et d'abcès dans la RCH (B2) et granulomes dans la MC (C2). La radiographie permet d'identifier une distension abdominale caractéristique d'un méga-côlon toxique (D) ou une sténose dans la MC (E, gauche). L'imagerie par résonance magnétique anatomique (IRMa) permet l'identification de fistules iléo-sigmoïdes dans la MC (E, centre et droite). Les ultrasons permettent de visualiser l'amincissement de la muqueuse colique après une phase d'inflammation aiguë (F, gauche) ou la dilatation pré-sténosante du côlon (F, droite).

L'ensemble des caractéristiques symptomatologiques de la MC et de la RCH est reproduit dans le Tableau II.

Symptomatologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin		
Symptôme	Maladie de Crohn	Recto-colite hémorragique
Site		
Rectum	Parfois	Oui
Côlon	2/3 des patients	Oui
Iléon	2/3 des patients	Non
Jéjunum	Rare	Non
Estomac ou duodénum	Rare	Non
Œsophage	Rare	Non
Caractéristiques cliniques		
Age moyen de survenue	Entre 20 et 40ans ; parfois chez l'enfant	Entre 30 et 50ans
Constipation	Parfois	Perte du péristaltisme
Diarrhée	Commun	Oui
Douleur abdominale	Commun	Parfois
Hémorragies rectales (hématochezie)	Rare	Commun
Atteinte de l'intestin grêle	Commun	Non (sauf en cas d'iléite rétrograde)
Obstruction de l'intestin grêle	Commun	Rare
Obstruction colique	Commun	Rare
Atteinte péri-anale	Commun	Non
Passage de mucus ou de pus dans les selles	Rare	Commun
Présence d'une masse abdominale	Commun	Rare
Fièvre	Commun	Commun
Perte de poids	Commun	Commun
Retard staturo-pondéral chez l'enfant et l'adolescent	Commun	Parfois
Signes de malnutrition	Commun	Commun
Manifestations extra-intestinales	Commun	Commun
Effet aggravant du tabac	Oui	Non
Complications intestinales		
Sténose	Commun	nr
Fistule	Commun	Non
Colectasie (mégacôlon toxique)	Non	nr
Perforation	Rare	nr
Cancer	Commun	Commun
Hémorragie	Rare	Profuse
Endoscopie et radiologie		
Distribution	Discontinue et segmentée	Continue
Ulcération	Profonde avec extension transmurale	Fine et superficielle
Erythème muqueux	Parfois	Oui
Fissures	Commun	Rare
Strictures ou fistules	Commun	Rare
Pseudopolypes	Commun	Commun
Implication iléale	Etroite et nodulaire	Dilatation
Caractéristiques anatomo-pathologiques		
Inflammation mucosale transmurale	Oui	Non
Inflammation séreuse	Oui	Parfois
Architecture des cryptes intestinales déformée	Rare	Oui
Cryptite et abcès cryptiques	Oui	Oui
Granulomes épithélioïdes	Oui	Non
Friabilité de la muqueuse	Parfois	Commun
Epaisseur de la sous-muqueuse	Augmentée	Diminuée
Altération de la muco-sécrétion	Parfois	Commun
Lymphangiectasie	Oui	Non
Hyperplasie neuronale	Oui	Non
Hyperplasie lymphoïde	Diffuse	Focale
Métaplasie des cellules de Paneth	Oui	Parfois
Caractéristiques biochimiques		
Anticorps anti-neutrophiles cytoplasmiques (ANCA)	Parfois	Commun (70% des patients)
Anticorps anti-saccharomyces cerevisiae (ASCA)	Commun (>50% des patients)	Parfois
Anticorps anti-OmpC de E. coli	Commun (>50% des patients)	Rare
Anticorps anti-séquence I2	Commun (>50% des patients)	Parfois
Anticorps anti-flagelline CBir1	Commun (>50% des patients)	Rare
Réponse immune	médiatisée par les Th1, IL2, IL12, TNF α , IFN γ	médiatisée par les Th2, IL4, IL5, IL13

nr : non renseigné

Tableau II. Symptomatologie des MICI. D'après Baumgart & Sandborn, 2007 ; Bossuyt 2006 ; Podolsky 2002 ; Bitton et al., 2001 ; McClane & Rombeau 1999.

A.I.1.c. Diagnostic

Aucun symptôme ni aucun test biologique ne permet de diagnostiquer la MC ou la RCH avec certitude. Outre les dosages sériques qui améliorent la fiabilité du diagnostic et la différenciation entre la MC et la RCH (Bossuyt, 2006), l'anamnèse et l'examen physique sont indispensables et avantageusement complétés par la recherche d'indices anatomo-pathologiques grâce aux techniques d'explorations anatomique et fonctionnelle (coloscopie, scanner ou IRM).

Diagnostic différentiel

Avant l'entreprise d'examens invasifs et coûteux, certaines pathologies causant des symptômes similaires à ceux des MICI doivent être écartées du diagnostic (Tableau III).

Causes non-inflammatoires de colites et entérites		
Infectieuses	. Bactéries	<i>Campylobacter</i> spp, <i>Salmonella</i> spp, <i>Shigella</i> spp, <i>Clostridium difficile</i> , <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> entérotoxigénique), <i>Yersinia</i> spp (surtout pour la MC), gonocoques, <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , mycobactéries atypiques
	. Parasites	<i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Cryptospora</i> spp, <i>Isospora</i> spp, <i>Trichuris trichura</i> , <i>Strongyloides stercoralis</i>
	. Virus	Cytomégalovirus, herpes simplex (pour la proctite), HIV
	. Champignons	<i>Candida</i> spp, <i>Aspergillus</i> spp
Non-infectieuses	. Inflammation	Diverticulite, colite microscopique (collagène et lymphocytaire), gastroentérite à éosinophiles, rejet de greffon, inflammation induite par l'irradiation, syndrome de Behçet, sarcoidose
	. Toxiques	Colite de diversion post-opératoire, perte d'acides biliaires, anti-inflammatoire non-stéroïdiens et autres drogues, usage ou abus de laxatifs, chimiothérapie anti-néoplasique
	. Malignes	Cancer colo-rectal, cancer de l'intestin grêle, tumeurs neuro-endocrines, lymphomes, néoplasmes métastatiques
	. Vasculaires	Colite ischémique, vasculite
	. Déficits osmotiques	Diarrhées liées à une hypokaliémie ou une hypomagnémie (troubles de la fonction rénale)
	. Cholangite sclérosante	Colite inflammatoire
	. Age avancé	Colite ischémique, vasculite

spp : subspecies

Tableau III. Diagnostic différentiel des MICI. D'après Baumgart & Sandborn, 2007.

A.I.1.d.Poids économique et social

Coût humain

Le pronostic vital des MICI est rarement pessimiste. Avec les traitements appropriés, les jeunes patients peuvent atteindre un poids et une taille normaux et le taux de mortalité demeure très bas. Les complications telles que l'occlusion, la perforation, le développement d'un cancer intestinal ou d'une colectasie et les opérations chirurgicales qui en découlent ont un fort risque de mortalité mais ce risque élevé est compensé par

une surveillance médicale précoce et régulière liée à la prise en charge de la maladie. Il existe cependant une forme fulminante de RCH qui peut être mortelle si l'intervention chirurgicale n'est pas assez rapide.

Les MICI affectent la qualité mais pas la durée de vie : le taux de mortalité des patients n'est pas différent de celui de la population normale.

Coût économique

Les MICI sont des maladies très invalidantes en raison de leur chronicité, du caractère imprévisible des accalmies et des rechutes et de la fatigue générale qui leur est associée. De plus, l'état de douleur chronique dans lequel se trouvent les patients contribue à atteindre aussi bien leur moral que leur santé. Ainsi, au Royaume-Uni, le coût total des soins médicaux et des arrêts de travail imputables aux MICI a été évalué à 30,000 pounds/an/patient (Bassi et al., 2004). Ce coût ne cesse de croître dans les pays industrialisés où l'incidence augmente.

A.1.2. Epidémiologie

A.1.2.a. Incidence et prévalence

Incidence

Les incidences les plus hautes sont rapportées en Europe du nord et en Amérique du nord où elles sont de 12 à 19/100 000/an et de 5 à 29/100 000/an, respectivement. Près de 1,4 millions d'Américains et de 2,2 millions d'Européens sont malades (Loftus, 2004).

Prévalence

La prévalence des MICI varie en fonction de l'ethnie ou de la race considérée. Les Caucasiens et les Afro-américains sont les plus touchés alors que les MICI sont rares chez les Hispaniques et les Asiatiques. Les Juifs Ashkénazes ont un risque beaucoup plus élevé de développer une MICI avec une incidence 2 à 4 fois supérieure à celle des Caucasiens non-Juifs (Nguyen et al., 2006).

Sex ratio

Les MICI atteignent aussi bien les hommes que les femmes. La prévalence de la MC est légèrement supérieure chez les femmes (sex ratio F/H entre 1,1 et 1,3) tandis qu'il n'y a pas de différence d'incidence en fonction du sexe pour la RCH.

A.1.2.b. Co-morbidité

Cancers intestinaux

Le décours naturel des MICI peut conduire à la formation de cancers du tube digestif. Leur prévention nécessite une surveillance régulière par endoscopie¹ et examens sanguins.

Autres

La prévalence des maladies auto-immunes (psoriasis, cholangite sclérosante, ostéoporose, anémie hémolytique, rhumatismes) chez les patients atteints de MICI est forte ce qui laisse présumer une dérégulation du système immunitaire dans l'étiologie de la MC et de la RCH (Cucino and Sonnenberg, 2001). Des complications neurologiques sont également communément rapportées dans la MC.

L'examen des symptômes, de la distribution de la maladie et des troubles co-morbides met en exergue le rôle potentiel de facteurs génétiques, environnementaux et immunitaires.

¹ Une coloscopie avec réalisation d'au moins 30 biopsies mucosales est recommandée chez les patients atteints de RCH dès 10 ans après l'apparition des premiers symptômes.

A.II. Étiologie

L'étiopathogénèse des MICI n'est pas connue. Mais l'hétérogénéité des manifestations cliniques et des données épidémiologiques plaide en faveur d'une étiologie multifactorielle mettant en jeu aussi bien les gènes (auto-immunité, vulnérabilité à l'infection...) que l'environnement (infection intestinale et dysbiose) (Figure 4).

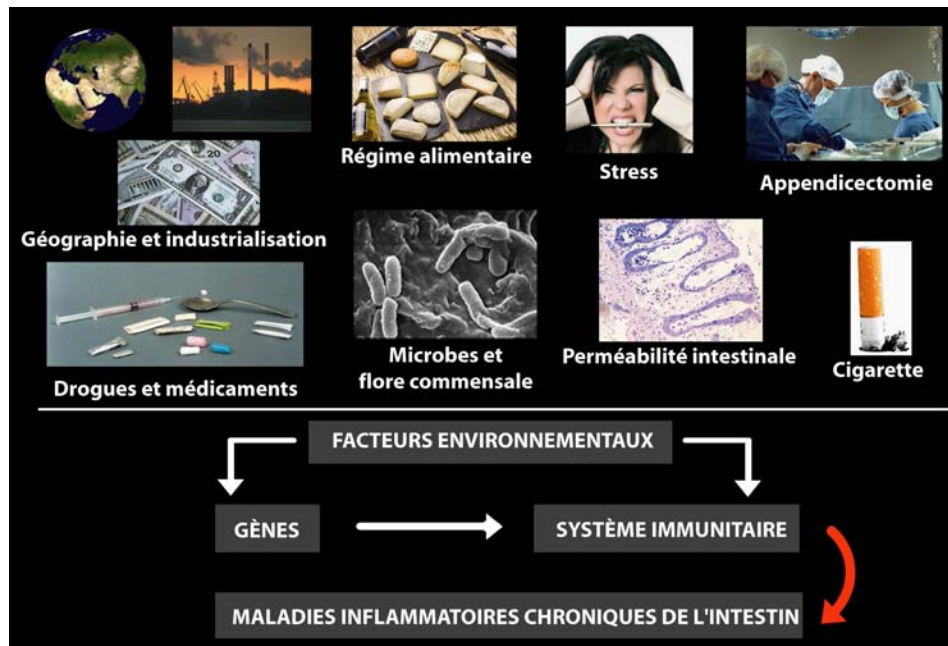


Figure 4. Facteurs de risque des MICI. Adapté de Danese *et al.*, 2004.

A.II.1. Génétique

La répartition géographique des MICI est très hétérogène. Il existe notamment des foyers qui se caractérisent par une densité importante de malades et par des formes cliniques particulières (formes familiales de MC). Ces données suggèrent une forte implication des gènes, ce qui est conforté par de nombreuses études familiales.

A.II.1.a. Etudes familiales

Les analyses d'agrégation familiale et de ségrégation dans les fratries indiquent un risque 30 fois supérieur à la moyenne de développer une MICI chez les apparentés de patients atteints (Binder and Orholm, 1996; Peeters *et al.*, 1996).

La première analyse systématique de concordance gémellaire a permis de suspecter une réelle origine génétique aux MICI (Tysk et al., 1988) puisque les taux de concordance étaient bien supérieurs chez les jumeaux monozygotes que chez les dizygotes, notamment pour la MC (MC 50% *versus* 4%; RCH 5% *versus* 0%).

A.II.1.b. Etudes d'association et de liaison génétiques

Genome-wide association studies

Les données issues de séquençages systématiques du génôme humain et en particulier les études de liaison (genome-wide association studies) ont permis de mettre en évidence des haplotypes spécifiques des MICI. Hugot, Satsangi et Cho ont ainsi été les premiers à identifier des régions chromosomiques avec des loci spécifiques des MICI (Hugot et al., 1994; Hugot et al., 1996; Satsangi et al., 1996; Cho et al., 1998). L'ensemble des GWA réalisées ces dernières années est rapporté dans le Tableau IV.

Etudes de liaison génétique dans les MICI				
Auteur	Année de publication	Nb d'apparentés malades	MC/RCH/MC+RCH	Régions chromosomiques de liaison
Hugot et al	1996	112	112/0/0	16cen
Satsangi et al	1996	186	81/64/41	12, 7q22, 3p21
Cho et al	1998	151 (297relative pairs)	97/18/36 (175/26/96)	16cen, 1p, 3q, 4q
Hampe et al	1999	268	129/90/49	16cen, 10q, 1q, 6p, 12, x, 22, 4q
Ma et al	1999	65	65/0/0	14q11, 17q21, 5q33
Durer et al	2000	94	94/0/0	14q11
Rioux et al	2000	183	116/20/47	19p13, 5q31, 3p, 6p
Williams et al	2002	70 (187relative pairs)	40/13/17 (105/29/53)	16cen, 11p, 6p21
Paavola-Sakki et al	2003	138	72/19/47	11p12, 2p11, 12p13, 12q23, 19q13
Vermeire et al	2004	149	129/0/20	14q11, Xq, 1q, 6q, 20p, 4q, 10q
Barmada et al	2004	260	108/72/80	12, 6p, 6q, 8q, 15q, 22, 2q
Duerr et al	2006	nr	547/nr/nr	1p31

nr: non renseigné

Tableau IV. Régions chromosomiques associées au risque de développer une MICI. D'après Baumgart & Carding, 2007.

Ces études ont permis d'établir une carte chromosomique des MICI présentant les loci les plus solidement associés aux MICI au niveau des chromosomes 1, 3, 5, 6, 12, 14, 16 et 19. Ces loci ont été nommés IBD#. Il en existe désormais 26, répertoriés dans le Tableau V.

Loci chromosomiques de susceptibilité pour les MICI (études répliquées)								
Marqueur génétique	Locus	Gènes candidats	Rôle(s) proposé(s) dans l'inflammation	Maladie associée	Polymorphisme(s) associé(s)	Echantillon	Références	PMID
IBD1	16q12	NOD2/CARD15, CD19, sialophorin, CD11 integrin cluster, IL4R	Détection des composants bactériens cytosoliques	MC ; RCH?	SNPs D16S409 et D16S419	2 groupes indépendants de familles avec MC	Hugot et al. 1996	11385576
					SNPs D16S409 et D16S753	54 familles australiennes avec MICI	Cavanaugh et al. 1998	9924607
					SNP D16S3117	77 familles avec MC	Zouali et al. 2001	11781683
IBD2	12p13.2-q24.1	STAT6, VDR, IFNg	Développement de la réponse des cellules T	MC + RCH	SNP D12S83	122 familles nord-américaines avec MICI	Duerr et al. 1998	9634527
IBD3	6p21.3	CMH HLA-DQA1, HLA-DRA, HLA-DRB5, and HLA-DRB1, TNFAlpha, TNFBeta, IL10, BTLN2	Détection des composants du non-soi	MC + RCH	SNPs D6S289 et D6S276	268 familles de descendance nord-européenne avec MICI	Hampe et al. 1999	10053016
IBD4	14q11-q12	MMP14, DAD1, TCR	Développement de la réponse des cellules T	MC	SNP D14S261	127 apparentés avec MC parmi 62 familles	Duerr et al. 2000	10747815
IBD5	5q31	IL3, IL4, IL5 and IL13, OCTN1, OCTN2, CSF2, SLC22A5	Régulation de l'inflammation	MC	SNPs rs6596075 et rs2188962	158 familles canadiennes avec MC	Rioux et al. 2000, 2001	11586304 et 10777714
IBD6	19p13	ICAM-1, C3, TBXA2R, LTB4H	Diapédèse, stimulation de la réponse des neutrophiles	MC + RCH	nr	137 apparentés parmi 112 familles avec MICI	Van Heel et al. 2003	12928481
IBD7	1p36	PADI4	nr	MC + RCH	SNPs D1S1597, D1S507 et D1S1628	4 familles américaines chaldéennes avec MICI	Cho et al. 1998, 2000	9636179 et 10814724
IBD8	16p	nr	nr	RCH	SNP D16S408	37 familles avec RCH	Annese et al. 2003	14627676
IBD9	3p26	DEC1	Anti-néoplasie	MC + RCH	SNP D3S1297	324 apparentés avec MICI parmi 234 familles	Duerr et al. 2002	12354785
IBD10	2q37.1	ATG16L1	Autophagie	MC	SNP rs2241880	735 patients avec MC (vs 368 contrôles)	Hampe et al. 2007	17200669
IBD11	7q22	MUC3A	Protection de la muqueuse épithéliale	MC + RCH	SNP D7S669	186 apparentés avec MICI parmi 160 familles	Satsangi et al. 1996	8841195
IBD12	3p21	MST1, BSN, GNAI2	Régulation de l'expression des médiateurs pro-inflammatoires	MC + RCH	SNP D3S2432	229 apparentés avec MICI parmi 93 familles finlandaises	Paavola et al. 2001	11378820
IBD13	7q21.1	ABCA1	Régulation de la production des glucocorticostéroïdes?	MC + RCH	SNP D7S669	186 apparentés avec MICI parmi 160 familles	Satsangi et al. 1996	8841195
IBD14	7q32	IRF5	Régulation de l'expression des médiateurs pro-inflammatoires	MC + RCH	Insertion CGGGG dans le région promotrice du gène IRF5	2 cohortes de patients belges : 1007 patients avec MICI vs 241 contrôles ; 687 patients avec MICI vs 311 contrôles	Dideberg et al. 2007	17881657
IBD15	10q21	ZNF365	Régulation de l'expression des médiateurs pro-inflammatoires?	MC + RCH	SNP rs224136	988 patients avec MC iléale vs 1007 contrôles	Rioux et al. 2007	17435756
					SNP rs10761659	3133 patients non apparentés avec RCH vs 4494 contrôles	Fisher et al. 2008	18438406
					SNP rs10995271	Méta-analyse de 3 études comprenant 3230 cas de MC vs 4829 contrôles	Barrett et al. 2008	18587394
IBD16	9q32	TNFSF15	co-stimulation des cellules T CD4+ activées	MC + RCH	SNP D9S2157	297 apparentés avec MICI parmi 174 familles	Cho et al. 1998	9636179
					SNPs rs3810936, rs6478108, rs6478109, rs7848647, et rs7869487	484 patients japonais avec MC vs 1097 contrôles	Yamakasi et al. 2005	16221758
					SNP rs4263839	Méta-analyse de 3 études comprenant 3230 cas de MC vs 4829 contrôles	Barrett et al. 2008	18587394
IBD17	1p31.1	IL23R, PTGER4	Génération et maintenance des cellules Th17 ; signalisation des prostaglandines	MC + RCH	Substitution R381Q dans le IL23R rs11209026 (libioulle)	547 patients caucasiens belges avec MC vs 928 contrôles	Libioulle et al. 2007	17447842
					SNP rs7517847	988 patients avec MC iléale vs 1007 contrôles	Rioux et al. 2007	17435756
					SNP rs4613763	Méta-analyse de 3 études comprenant 3230 cas de MC vs 4829 contrôles	Barrett et al. 2008	18587394

Loci des MICI (suite)								
IBD18	5p13.1	Gène modulant PTGER4?	Signalisation des prostaglandines?	MC + RCH	SNP rs1373692	547 patients caucasiens belges avec MC vs 928 contrôles	Libioulle et al. 2007	17447842
					SNP rs4613763	Méta-analyse de 3 études comprenant 3230 cas de MC vs 4829 contrôles	Barrett et al. 2008	18587394
					SNP rs1992660	2 groupes indépendants de patients caucasiens avec MC : 454 franco-canadiens et 453 anglo-saxons vs 521 contrôles	Franke et al. 2007	18438405
IBD19	5q33.1	IRGM, IL12B	Autophagie	MC	SNP IL12B rs6887695	1182 patients avec MC vs 2024 contrôles	Parkes et al. 2007	17554261
					SNP IL12B rs6556416	3133 patients non apparentés avec RCH vs 4494 contrôles	Fisher et al. 2008	18438406
					SNPs IRGM rs4958847 et rs4958427	2 groupes indépendants de patients caucasiens avec MC : 454 franco-canadiens et 453 anglo-saxons vs 521 contrôles	Franke et al. 2007	18438405
					SNPs IRGM rs11747270 et rs10045431	Méta-analyse de 3 études comprenant 3230 cas de MC vs 4829 contrôles	Barrett et al. 2008	18587394
IBD20	10q23-q24	DLG5, NKX2-3	Maintien de l'intégrité épithéliale	MC + RCH	SNPs rs11190140 et rs10883365	1850 patients avec MC et 1103 patients avec RCH vs 1817 contrôles	Franke et al. 2008	18438405
					SNPs D10S547 et D10S20	268 familles de descendance nord-européenne avec MICI	Hampe et al. 1999	10053016
					SNP rs10883365	1182 patients avec MC vs 2024 contrôles	Parkes et al. 2007	17554261
IBD21	18p11	NDUFV2, VAPA, PACAP, PTPN2	Signalisation du TCR	MC + RCH	SNP PTPN2 rs2542151	1182 patients avec MC vs 2024 contrôles	Parkes et al. 2007	17554261
IBD22	17q21	STAT3, ORMDL3	Développement de la réponse des cellules T	MC	SNP ORMDL3 rs2872507	Méta-analyse de 3 études comprenant 3230 cas de MC vs 4829 contrôles	Barrett et al. 2008	18587394
					SNP STAT3 rs744166	1850 patients avec MC et 1103 patients avec RCH vs 1817 contrôles	Franke et al. 2008	18438405
IBD23	1q32	IL10	Régulation de la production de médiateurs inflammatoires	MC + RCH	SNP -1082G	304 patients australiens avec MC vs 231 contrôles	Fowler et al. 2005	15937090
					SNP rs17419032	1850 patients avec MC et 1103 patients avec RCH vs 1817 contrôles	Franke et al. 2008	18438405
					SNP rs3024505	1167 patients avec RCH vs 777 contrôles	Franke et al. 2008	18836448
IBD24	20q13	TNFRSF6B ou DCR3	Co-stimulation des cellules T CD4+ activées	MC + RCH	SNPs rs2315008 et rs4809330	1011 patients avec MICI d'apparition pédiatrique vs 4250 contrôles	Kugathasan et al. 2008	18758464
IBD25	21q22	PSMG1	Autophagie	MC + RCH	SNP rs2836878	1011 patients avec MICI d'apparition pédiatrique vs 4250 contrôles	Kugathasan et al. 2008	18758464
IBD26	12q15	nr	nr	RCH	SNPs rs1558744, rs7134599, rs2870946	1052 patients avec RCH vs 2571 contrôles	Silverberg et al. 2009	19122664

nr: non renseigné

Article de référence: Wellcome Trust Case Control Consortium : Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. Nature 447: 661-678, 2007. PMID : 17554300

Tableau V. Loci chromosomiques fortement associés au risque de développer une MICI.

A.II.1.c. Gènes candidats

Des études répliquées ont mis en évidence plus particulièrement certains gènes parmi les nombreux candidats identifiés sur les loci chromosomiques.

Gène codant NOD2/CARD15 sur le chromosome 16 (locus 16q12 IBD1)

NOD2 (ou CARD15 ou NOD2/CARD15 pour Nucleotide-binding Oligomerization Domain/Caspase-Activating Recruitment Domain15) est un récepteur cytoplasmique impliqué dans l'immunité innée. Trois polymorphismes nucléotidiques (SNP), fortement associés à la MC chez les Caucasiens et les Juifs Ashkénazes, ont été décrits dans les régions codantes de NOD2/CARD15 (Hugot et al., 1996). Les trois mutations majeures de NOD2 (G908R, R702W et L1007fsinsC) sont retrouvées à l'état homozygote ou hétérozygote composite chez 10 à 15% des patients atteints de MC. L'hétérozygotie entraîne un risque accru d'un facteur 2 à 4 de développer la MC tandis que l'homozygotie implique un risque 20 à 40 fois plus grand.

Gènes codant pour le CMH et le TNF α sur le chromosome 6 (locus 6p21.3 IBD3)

Les études de liaison ont démontré des associations spécifiques entre les glycoprotéines HLA de classe I et II, la localisation de l'inflammation et les manifestations extra-intestinales associées aux MICI (Satsangi et al., 1996; de la Concha et al., 1999; Stokkers et al., 1999).

Outre la région HLA, le locus IBD3 est aussi porteur du gène du TNF α (tumor necrosis factor α). Le TNF α , de par son rôle pivot dans la diapédèse et la coordination de l'inflammation, est fortement suspecté d'être un facteur causal des MICI (Sashio et al., 2002).

Gène codant pour le récepteur de l'IL23 sur le chromosome 1 (locus 1p31.1 IBD17)

L'IL23 est une cytokine pro-inflammatoire qui régule la réponse innée des macrophages et des cellules dendritiques. Plusieurs polymorphismes (R381Q, A381G, L310P) du gène codant pour le récepteur à l'interleukine 23 (IL23R) ont été décrits dans les MICI (Duerr et al., 2006; Libioulle et al., 2007; Einarsdottir et al., 2009) mais ont des répercussions négatives sur la MC et positives sur la RCH (Lin et al., 2009).

Gènes codant pour ATG16L1 sur le chromosome 2 (locus 2q37.1 IBD10) et IRGM sur le chromosome 5 (locus 5q33.1 IBD19)

Deux protéines participant aux processus physiologiques d'autophagie, ATG16L1 (ATG16 autophagy-related 16-like 1) et IRGM (Immunity-related GTPase protein type M), ont récemment été fortement associées à la MC. Les mutations A197T (Rioux et al., 2007) et A300T (Hampe et al., 2007) de la protéine ATG16L1 et T313C de la protéine IRGM retrouvées chez les patients (Parkes et al., 2007) suggèrent que la voie de l'autophagie est impliquée dans la MC.

Ces découvertes montrent qu'un sous-ensemble de gènes associés aux MICI (TNF α , IL23R, CMH) est commun à la MC et à la RCH mais de nombreux autres gènes sont également candidats notamment NOD1/CARD4, MUC2 et MUC3, ICAM1, IL6, TLR4 et DGL5 (Lawrance et al., 2001). Cependant, si les principaux gènes candidats présentés ci-dessus sont issus d'études répliquées et confirmées par des données pré-cliniques et cliniques, une certaine prudence est nécessaire face au très grand nombre de loci de susceptibilité. En effet, la plupart des SNP génotypés et identifiés par les études génomiques à grande échelle ont été choisis plus pour leur marquage efficace du génôme que pour leur rôle possible dans la fonction génique. De plus, nombre d'entre eux n'ont pas été identifiés de façon répliquée (Mathew, 2008). D'autre part, ces études ne sont informatives que dans la mesure où elles résultent principalement d'études de liaison génétique au sein de familles où plusieurs membres sont malades et où l'âge d'apparition des MICI est précoce (Bonnen and Cho, 2003; Duerr, 2003).

A.II.2. Environnement biologique

A.II.2.a. Limites des données génétiques

De nombreuses observations épidémiologiques et la concordance monozygotique imparfaite démontrent que l'existence de prédispositions génétiques ne suffit pas à expliquer le développement des MICI (Jantchou et al., 2006).

L'incidence des MICI suit un gradient croissant sud-nord aussi bien aux niveaux mondial et national que régional. Des différences d'incidence sont constatées dans certaines populations migrantes, avec par exemple l'augmentation du nombre de MICI

pour les populations asiatiques migrant en Europe et inversement la diminution du risque de MICI chez les populations européennes migrant en Asie (Binder, 2004). Ce changement de prévalence après la migration est également décrit dans des groupes ethniques (par exemple chez les Chinois vivants à Hong-Kong par rapport aux Chinois vivant en métropole). Ces données, recoupées avec celles rapportant une incidence et une prévalence croissantes dans les pays industrialisés et dans les pays en voie de développement, indiquent que des facteurs environnementaux et culturels liés au mode de vie occidental sont en jeu dans le développement des MICI.

De plus, les formes conjugales de MICI (un des deux conjoints n'est pas malade mais le devient dans les années qui suivent le mariage) sont significativement plus fréquentes que ne le voudrait le hasard et suggère un partage de facteurs environnementaux (Laharie et al., 2001).

A.II.2.b. Infections

Les similitudes entre les MICI et certaines formes d'entéro-colites infectieuses initiées par des espèces bactériennes non commensales (*Campylobacter*, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, *Helicobacter spp.* ou *Yersinia spp.*) suggèrent que des agents infectieux à tropisme intestinal participent à l'étiologie des MICI. Cette hypothèse est étayée par les données épidémiologiques qui associent l'usage excessif des antibiotiques et la modification du mode de vie alimentaire et sanitaire à une évolution de la composition de la flore digestive (Van Kruiningen et al., 2005). Le Tableau VI répertorie les nombreux micro-organismes suspectés (Cartun et al., 1993; Liu et al., 1995).

A.II.2.c. Flore bactérienne commensale

Des rôles inducteur et amplificateur de l'inflammation intestinale ont été prêtés à la flore commensale intestinale. La composition de la flore fécale diffère entre patients atteints de MICI et sujets sains (Sokol et al., 2008). Les techniques de culture ont montré une diminution de *Lactobacillus* et une augmentation significative des entéro-bactéries (Macfarlane et al., 2009) chez les patients atteints de MC. De plus, la population totale bactérienne mucosale est plus importante en masse chez les patients atteints d'une MICI comparativement à des sujets sains (Kleessen et al., 2002; Swidsinski et al., 2002) aussi

bien au niveau du mucus qu'à la surface de l'épithélium intestinal (Swidsinski et al., 2005). D'un point de vue qualitatif, la bio-diversité mucosale est réduite chez les patients atteints de MICI avec notamment une diminution des espèces bactériennes bénéfiques (*Bifidobacteria* et *Lactobacilli*) et une augmentation des bactéries pathogènes associées à la muqueuse intestinale (*Bacteroides* et *Escherichia coli*) chez les patients atteints de MC (Tamboli et al., 2004).

Micro-organismes recherchés dans les tissus de patients atteints de MICI		
Virus	Bactéries	Parasites
Adénovirus	<i>Brucella</i> spp.	<i>Borrelia</i> spp.
Epstein-Barr Virus	<i>Chlamidia</i> spp.	<i>Toxoplasma gondii</i>
Cytomégalo virus	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Treponema</i> spp.
Virus de la grippe	<i>Escherichia coli</i>	
Coronavirus	<i>Helicobacter</i> spp.	
Rotavirus	<i>Legionella</i> spp.	
Virus de la rougeole	<i>Mycobacterium</i> spp.	
Virus respiratoire syncytial	<i>Mycoplasma</i> spp.	
Virus para-influenza types 2 et 3	<i>Pseudomonas</i> spp.	
Virus de la diarrhée virale bovine	<i>Salmonella</i> spp.	
	<i>Staphylococcus</i> spp.	
	<i>Streptococcus</i> spp.	
	<i>Shigella</i> spp.	
	<i>Yersinia</i> spp.	
	<i>Enterococcus</i>	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	<i>Bacteroides vulgatus</i>	
	<i>Bacteroides burgdorferi</i>	

Tableau VI. Agents infectieux suspectés dans l'étiopathogénèse des MICI. D'après Lamps *et al.*, 2003 ; Huysdens *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2000 ; Liu *et al.*, 1995 ; Cartun *et al.*, 1993.

A.II.3. Environnement socio-psycho-culturel

A.II.3.a. Mode de vie

Le tabagisme affecte différenciellement le risque de survenue des MICI (Lakatos et al., 2007). Le tabagisme actif augmente le risque de développer une MC et aggrave l'évolution de la maladie surtout chez les femmes (sévérité de la récurrence chirurgicale, complications perforantes sévères de type abcès ou fistules) (Calkins, 1989). Le tabagisme passif au cours de l'enfance pourrait lui aussi augmenter l'incidence de MC chez l'adulte. A l'inverse, il existe un effet protecteur du tabagisme vis-à-vis de la RCH, non seulement chez les fumeurs actifs mais aussi chez les fumeurs passifs (Calkins, 1989).

La forte incidence des MICI dans les pays industrialisés et les zones urbaines a conduit à considérer les habitudes alimentaires comme un facteur de risque potentiel. Une consommation excessive en sucres rapides, protéines, graisses ou aliments raffinés, poissons et coquillages, fruits, eau, potassium, magnésium et vitamine C augmente le risque de développer une MICI (Ekbom and Montgomery, 2004). La prise de vitamines et de minéraux chez la mère pendant la grossesse diminuerait ce risque pour la MC. Une hypothèse récente propose que les micro-particules trouvées dans l'alimentation (oxyde de titane et silicate d'aluminium) se comportent comme des transporteurs d'antigène de la lumière vers la muqueuse intestinale, agissant ainsi comme de puissants stimulateurs des cellules immunitaires (Lomer et al., 2002).

L'allaitement maternel renforce le système immunitaire intestinal de l'enfant (Schack-Nielsen and Michaelsen, 2006). Plusieurs études ont montré que l'allaitement artificiel exclusif favorise les MICI alors que l'allaitement maternel les prévient (Klement et al., 2004).

L'hypothèse d'une "meilleure hygiène" a été mise en avant pour expliquer le gradient nord-sud de la MC et l'augmentation des MICI depuis la dernière guerre. Cette hypothèse propose qu'un excès d'assainissement limite le niveau d'exposition aux antigènes environnementaux et perturbe la maturation fonctionnelle du système immunitaire muqueux et l'induction de la tolérance immunitaire. Ces perturbations instaurent une réponse immunitaire inappropriée lors de la ré-exposition aux antigènes environnementaux au cours de la vie, par exemple aux bactéries neurotropes (*Listeria*, *Yersinia*...) si la chaîne du froid n'est pas respectée. La limitation du contact avec des micro-organismes jouant un rôle régulateur du système immunitaire (*Lactobacilli* des produits laitiers fermentés, mycobactéries saprophytes de l'environnement, helminthes¹) expliquerait la résurgence des MICI et des allergies (Rook et al., 2004). Ainsi, plus le mode de vie est propre, notamment pendant l'enfance, et plus la vulnérabilité aux MICI est forte. Cette hypothèse permet de rendre compte du fait que la MC n'existe pas dans le tiers-monde.

De façon anecdotique, le stress psychologique a été décrit comme un facteur aggravant de l'activité inflammatoire dans les MICI. Des événements de vie traumatisants,

¹ A titre d'exemple, il est à noter que les MICI sont rares et les helminthiases fréquentes dans les pays en voie de développement. Wang *et al.* (2008) *World J Gastroenterol* 14(33):5125-32.

le stress chronique et la dépression augmenteraient la probabilité de rechute chez les patients en rémission (Lerebours et al., 2007).

A.II.3.b. Soins médicaux

Les études épidémiologiques suggèrent que l'appendicectomie protège contre la RCH (Koutroubakis et al., 2002). De façon opposée, les patients appendicectomisés atteints de MC ont un risque accru de développer des sténoses (Andersson et al., 2003; Cosnes et al., 2006). Ces résultats contrastés pourraient être liés au contrôle des microbes par le système immunitaire muqueux, au rôle de l'hygiène et à l'incapacité de développer une tolérance immunitaire après l'appendicectomie.

L'utilisation d'antibiotiques favoriserait l'émergence de la MC. Une utilisation accrue d'antibiotiques chez l'enfant est associée au risque de développer la MC. De plus, les sujets atteints de MC auraient reçu, plus souvent que les témoins, des antibiotiques dans les 2 à 5 ans précédant le diagnostic (Card et al., 2004).

Faute d'étiologie bien définie et confrontée à l'aspect pluri-factoriel de la maladie, la recherche de traitements appropriés aux MICI s'est principalement développée sur la base du diagnostic familial précoce de la maladie, de la maîtrise des facteurs de risque biologiques et de la prévention des facteurs de risque socio-culturels afin de cibler les symptômes douloureux et inflammatoires.

A.III. Traitements

A.III.1. Stratégies thérapeutiques

En l'absence de cause biologique identifiée, aucun traitement n'est en mesure de guérir définitivement une MICI. Les traitements utilisés actuellement sont insatisfaisants car ils ont pour objectif le contrôle de l'activité de la maladie en ciblant les symptômes mais pas les causes de l'inflammation. De plus, le délai d'action important, le taux de réponse incomplet et les risques d'effets indésirables caractérisant la plupart des thérapies

proposées conduisent les patients à une mauvaise compliance.

La stratégie thérapeutique des MICI consiste à traiter la maladie dans sa phase active afin de résorber l'inflammation (induction de la rémission par le traitement des poussées) et à réduire le risque de rechute (maintien de la rémission par le traitement de fond). Schématiquement, l'induction de la rémission est assurée par les amino-salicylés en première intention puis par les corticostéroïdes. Pour le maintien de la rémission, les antibiotiques seront prescrits en première intention puis éventuellement assistés par les anti-métaboliques et les anticorps anti-TNF α .

Les options thérapeutiques sont très variables selon la nature de la MICI, sa localisation, sa sévérité et son profil évolutif (induction ou maintien de la rémission). Les doses, la voie d'administration ou l'association des médicaments entre eux ou avec d'autres modalités thérapeutiques non médicamenteuses (nutrition ou chirurgie) seront des facteurs décisifs dans l'efficacité du traitement (Hanauer and Present, 2003). Le Tableau VII expose les différentes situations cliniques et les décisions thérapeutiques qui en découlent.

Stratégies thérapeutiques en fonction de la localisation et de la sévérité des MICI							
Maladie	Type	Activité de la maladie					
		Faible	Modérée	Sévère	Réfractaire	Atteinte péri-anales	Rémission
MC	Toute région	Amino-salicylés en voie OR	Corticostéroïdes en voie OR	Corticostéroïdes en voies OR ou PAR	Infliximab en voie IV	Anti-biotiques en voie OR	Mercaptopurine ou azathioprine en voie OR
		Métronidazole en voie OR	Mercaptopurine ou azathioprine en voie OR	Méthotrexate en voies IV ou sous-cutanée	Adalimumab en voie SC	Mercaptopurine ou azathioprine en voie OR	Budésônide en voie OR
		Budésônide ou ciprofloxacine en voie OR		Infliximab en voie IV	Certolizumab pégylé en voie SC	Infliximab en voie IV	Méthotrexate en voies IV ou SC
					Mercaptopurine ou azathioprine en voie OR	Métronidazole en voie OR	Infliximab en voie IV
RCH	Distale	Amino-salicylés en voies OR ou RECT	Amino-salicylés en voies OR ou RECT	Amino-salicylés en voies OR ou PAR	Corticostéroïdes en voies OR ou - IV + mercaptopurine ou azathioprine en OR		Amino-salicylés en voies OR ou RECT
		Corticostéroïdes en voies OR ou RECT	Corticostéroïdes en voies OR ou RECT	Corticostéroïdes en voies RECT	Amino-salicylés en voie RECT	-	Mercaptopurine ou azathioprine en OR
		Infliximab en voie IV	Infliximab en voie IV	Tacrolimus en voie OR Infliximab en voie IV	Infliximab en voie IV	-	Infliximab en voie IV
	Extensive	Amino-salicylés en voie OR	Amino-salicylés en voie OR	Corticostéroïdes en voies OR ou PAR	Corticostéroïdes en voies OR ou IV + mercaptopurine ou azathioprine en OR	Amino-salicylés en voie OR	Amino-salicylés en voie OR
		Infliximab en voie IV	Infliximab en voie IV	Ciclosporine en voie IV	Amino-salicylés en voie OR	Mercaptopurine ou azathioprine en voie OR	Infliximab en voie IV
				Tacrolimus en voie OR Infliximab en voie IV	Infliximab en voie IV	Infliximab en voie IV	

OR: voie orale / PAR: voie parentérale / IV: voie intra-veineuse / RECT: voie rectale / SC: voie sous-cutanée

Tableau VII. Stratégies thérapeutiques dans les MICI.

A.III.2. Traitements non pharmacologiques

A.III.2.a. Diète et hygiène de vie

Certains ajustements alimentaires auraient un effet bénéfique sur les MICI. Les fruits et légumes joueraient un rôle protecteur alors que la consommation d'aliments gras et riches en sucres raffinés serait inductrice de la MC. Pour la RCH, un régime riche en

fibres, particulièrement en fibres de crucifères crus, et la consommation de flocons d'avoine sont souhaitables. Les herbes aromatiques, riches en composés contenant du sulphydryl (un groupement chimique proche du sulfate de la sulfalazine utilisé comme traitement des MICI), sont éventuellement conseillées (Salim, 1992). De même, les poissons, riches pourvoyeurs d'anti-inflammatoires alimentaires comme l'acide eicosanoïque (inhibiteur de l'activité leukotriène) seront préférés aux viandes. Enfin, comme nous l'avons vu plus haut, l'arrêt du tabagisme devra être envisagé dans le cas de la MC.

A.III.2.b. Chirurgie

L'acte chirurgical (résection de tout ou partie de l'intestin ulcéré) est nécessaire en cas d'évolution défavorable : absence de réponse aux médicaments ou apparition de complications (sténoses, fistules, cancer...) (Tableau VIII).

Traitement chirurgical des MICI			
Type	Condition	Traitement	Maladie
Pas de complication	Segment non-obstrué, non-perforé	Traitement médical	MC + RCH
Sténoses	Obstruction duodénale	Sténoplastie ou pontage	MC
	Obstruction intestinale aigüe	Traitement médical	MC + RCH
	Obstruction récurrente chronique	Sténoplastie ou résection	MC + RCH
Fistulisation	Fistule symptomatique	Sténoplastie ou résection	MC
Risque septique	Abcès abdominal	Drainage ou résection	MC + RCH
	Perforation	Résection et anastomose	MC + RCH
	Colectasie (mégacôlon toxique)	Colectomie et anastomose iléo-rectale ou iléo-anale	RCH
Cancérisation	Carcinome du grêle	Résection segmentaire du grêle ou résection iléo-cæcale	MC
	Carcinome colique	Colectomie et anastomose iléo-rectale ou iléo-anale	MC + RCH
	Carcinome colo-rectal	Colectomie et anastomose iléo-rectale ou iléo-anale	MC + RCH

Les interventions de dérivation (iléostomie/colostomie) ne sont actuellement plus admises car le maintien d'un segment intestinal malade et uniquement dérivé permet la poursuite de la maladie et l'apparition de complications

Tableau VIII. Stratégie chirurgicale en fonction du type de complication des MICI.

La MC ne peut pas être guérie par la chirurgie mais 45 % des patients subissent une opération chirurgicale dans les deux années suivant le diagnostic et les résections chirurgicales sont inévitables dans 90% des cas. L'exérèse des segments atteints ne protège pas des récives de MC sur le lieu même de la résection. Les effets collatéraux de la chirurgie (Tableau X p40) sont les mêmes en ce qui concerne la RCH. Cependant, la résection du côlon peut s'avérer curative dans les cas graves tels que l'hémorragie exsanguinatrice, la perforation franche, la cancérisation ou la colectasie.

A.III.2.c. Pro-et pré-biotiques

L'administration de bactéries "saines" apparaît actuellement comme une approche pleine de promesses (Schultz and Lindstrom, 2008). Des patients atteints de MC active traités avec un mélange de bactéries commensales VSL#3[®] ont une réponse thérapeutique positive, apparemment sans effet systémique indésirable (Floch, 2003). Le mélange VSL#3[®] (VSL#3/Questcor) est composé majoritairement de *S. thermophilus* mais contient aussi *B. breve*, *B. longum*, *B. infantis* dans une moindre mesure et *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* et *L. bulgaricus* dans de faibles proportions. Le mécanisme hypothétique est le ré-équilibrage des populations bactériennes et la régulation du système immunitaire intestinal (Willing et al., 2008). Le mélange VSL#3[®] a également un effet bénéfique sur la RCH (Bibiloni et al., 2005) pour laquelle la bactériothérapie fécale via des instillations rectales a aussi montré des résultats encourageants (Borody et al., 2003). Les pro-biotiques *Lactobacillus* GG (Culturelle; ConAgra Functional Foods) et *Saccharomyces boulardii* (Florastor; Biocodex) ont été étudiés dans l'industrie pharmaceutique mais les données sont équivoques (Prantera et al., 2002; Guslandi et al., 2003; Schultz and Lindstrom, 2008).

Les pré-biotiques sont des carbohydrates complexes comme les fructo-oligosaccharides (FOS) qui résistent à la digestion dans l'intestin grêle et constituent le substrat préférentiel de certaines bactéries commensales (en général, le genre *Bifidobacteria*). Les pré-biotiques permettent la croissance et la prolifération de ces bactéries et peuvent modifier l'environnement intestinal, par exemple en changeant le pH colique. Les données cliniques restent limitées mais une étude pilote chez des malades atteints de MC a montré que l'ingestion quotidienne de FOS pendant trois semaines augmentait la concentration de bifidobactéries fécales tout en diminuant l'activité inflammatoire de la maladie (Lindsay et al., 2006). Les acides gras à chaîne courte (acétate, propionate, butyrate) issus du métabolisme des oligosaccharides pré-biotiques sont les principaux carburants du colonocyte et ont des effets trophiques et anti-inflammatoires sur le côlon adulte. Les fibres diététiques pourraient donc avoir un effet protecteur contre les MICI en augmentant la production colique de ces acides gras (Galvez et al., 2005; Tedelind et al., 2007; Weng et al., 2007).

A.III.3. Traitements pharmacologiques

L'ensemble des traitements pharmacologiques est présenté dans le Tableau IX.

A.III.3.a. Antibiotiques

L'effet bénéfique d'une action sur la flore colique est retrouvé dans les protocoles cliniques qui montrent que les antibiotiques sont utiles dans le traitement de certains sous-groupes de patients avec la MC (Sutherland et al., 1991). Le métronidazole est ainsi efficace pour les patients dont le tableau clinique présente des atteintes coliques ou des fistules péri-anales mais des doses importantes (jusqu'à 750mg, 3 fois/jour) sont nécessaires et potentiellement neuro-toxiques. La ciprofloxacine et la clarithromycine pourraient être utilisées alternativement au métronidazole. De façon contrastée, l'usage des antibiotiques dans le traitement de la RCH est très limité ce qui pourrait indiquer un rôle différent de la flore luminale dans ces deux formes de MICI (Turunen et al., 1998).

A.III.3.b. Modulateurs de la réponse inflammatoire

Anticorps anti-TNF α

Le TNF α est une cytokine pro-inflammatoire dont la concentration est fortement augmentée au niveau de la muqueuse intestinale et des selles des patients atteints de MICI (Andoh et al., 2008; Johansson et al., 2008). L'infliximab, l'adalimumab et le certolizumab pégylé sont les anticorps monoclonaux anti-TNF α les plus utilisés. L'infliximab est utilisé comme immuno-modulateur pour le traitement des MC sévères et ne répondant pas aux traitements cliniques conventionnels. Cet anticorps permet un contrôle efficace des poussées et un maintien des rémissions de MICI (Danese, 2008). Toutefois, les anti-TNF α comportent une forte toxicité (Tableau X p40) et la durée d'action du traitement peut être réduite par la formation d'auto-anticorps (Caviglia et al., 2008).

Anti-inflammatoires stéroïdiens

Le traitement des MICI utilise les propriétés anti-inflammatoires des glucocorticoïdes naturels (cortisone, hydrocortisone ou cortisol) (Newton, 2000) et des glucocorticoïdes de synthèse (prednisone, prednisolone, méthylprednisolone, cortifoam,

budésonide, béclo-métasone) qui ont une activité anti-inflammatoire plus forte et des effets minéralo-corticoïdes très réduits. Il y a peu de contre-indications à l'utilisation des cortico-stéroïdes même si celle-ci implique une surveillance médicale des effets indésirables potentiels (Tableau X p40) (Lichtenstein et al., 2006).

Amino-salicylés

Les amino-salicylés sont des molécules de synthèse dérivées de l'acide salicylique qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes. La sulfalazine est l'amino-salicylé le plus utilisé mais le risque d'effets indésirables associés à ce médicament (intolérance digestive et réaction allergique) a conduit à rechercher des dérivés aussi efficaces et mieux tolérés. Il s'agit principalement de la mésalazine, de l'olsalazine et de l'acide para-amino-salicylé pour lesquels la tolérance est meilleure.

Anti-métaboliques

Le méthotrexate, l'azathioprine et son produit métabolique la 6-mercaptopurine sont des agents de la classe des anti-métabolites, utilisés essentiellement dans le traitement de certains cancers et dans les maladies auto-immunes. Leur activité immuno-suppressive réduit la prolifération lymphocytaire par l'interférence avec la synthèse des acides nucléiques purinergiques. Ces composés nécessitent une surveillance régulière car ils sont toxiques et favorisent les infections opportunistes et les lymphomes (Tableau X p40).

Régulation de la réponse T

Les médicaments diminuant l'intensité de la réponse cellulaire du système immunitaire sont très utilisés dans les MICI. La ciclosporine et le tacrolimus bloquent la prolifération des cellules T et la transcription du gène IL2. Ils sont utilisés comme traitement d'entretien de la MC et plus rarement de la RCH. Leur utilisation est délicate en raison d'une mauvaise compliance liée à un délai d'action de plusieurs mois avant leur pleine efficacité et en raison de leur toxicité (Tableau X p40).

La modulation des cytokines par les anticorps anti-IFN γ , anti-IL12, anti-IL23 et anti-IL10 et le blocage des cellules T par les anticorps anti-IL2R sont également en cours d'évaluation.

Traitements thérapeutiques confirmés et potentiels des MICI					
Approche thérapeutique	Agent	Cible	Classe médicamenteuse	Maladie	Potentiel thérapeutique
Différenciation et prolifération des cellules T	Azathioprine	lymphocytes	anti-métabolique	MC + RCH	validé
	Ciclosporine	cellules T	immuno-suppresseur	MC + RCH	validé
	Méthotrexate	lymphocytes	anti-métabolique	MC + RCH	validé
	Tacrolimus	cellules T	immuno-suppresseur	MC + RCH	validé
	16H5	CD6	anticorps	MC + RCH	en phase clinique
	ABT-874 (J695)	IL12	anticorps	MC	en phase clinique
	Atlizumab/MRA	IL6R	anticorps	MC	en phase clinique
	BF-5	CD7	anticorps	MC + RCH	en phase clinique
	Certolizumab (CDP-870)	cellules T	anticorps-PEG	MC + RCH	en phase clinique
	cM-T412	CD4	anticorps	MC + RCH	en phase clinique
	CNT01275	IL12	anticorps	MC	en phase clinique
	Daclizumab/basiliximab	CD25	anticorps	RCH	en phase clinique
	Golimumab	cellules T	anticorps	RCH	en phase clinique
	IFN2a	cellules T	interféron-PEG	RCH	en phase clinique
	IFN1a	cellules T	interféron	RCH	en phase clinique
	IL10	lymphocytes	cytokine recombinante	MC	en phase clinique
	MAX	CD5	anticorps	MC + RCH	en phase clinique
	Mycophénolate mofétil	cellules T	immuno-suppresseur	RCH	en phase clinique
	STA-5326 mésylate	IL12	molécule de petite taille	MC	en phase clinique
	Thalidomide	TNF±	molécule de petite taille	MC	en phase clinique
	Visilizumab	CD3	anticorps	MC + RCH	en phase clinique
Cytokines inflammatoires/voies de signalisation	Cortisone, cortisol	IL	glucocorticoïdes naturels	MC + RCH	validé
	Infliximab	TNF±	anticorps	MC + RCH	validé
	Prednisone, prednisolone, méthylprednisolone, cortifoam...	IL	glucocorticoïdes de synthèse	MC + RCH	validé
	Sulfalazine, mésalazine, olsalazine...	IL	amino-salicylés	MC + RCH	validé
	Adalimumab	TNF±	anticorps	MC + RCH	en phase clinique
	Adalimumab	TNF±	anticorps	MC	en phase clinique
	Basiliximab	IL2	anticorps	RCH	en phase clinique
	CDP571	TNF±	anticorps	MC	en phase clinique
	Certolizumab (CDP-870)	TNF±	anticorps-PEG	MC + RCH	en phase clinique
	Daclizumab	IL2	anticorps	RCH	en phase clinique
	Doramapimod (BIRB796)	TNF±	inhibiteur MAPK	MC	en phase clinique
	Etanercept	TNF±	protéine de fusion du récepteur p75	MC	en phase clinique
	Fontolizumab	IFN±	anticorps	MC	en phase clinique
	Golimumab	TNF±	anticorps	RCH	en phase clinique
	Onercept	TNF±	récepteur p55	MC	en phase clinique
	Oprelvekin	IL11	cytoline recombinante	MC	en phase clinique
	RDP58	P38/JNK	peptide	RCH	en phase clinique
	Rosiglitazone	PPAR±	molécule de petite taille	RCH	en phase clinique
	Semapimod	P38/JNK	molécule de petite taille	MC	en phase clinique
	Semapimod (CNI-1493)	TNF±	inhibiteur MAPK	MC	en phase clinique
	Huile de poisson	acide arachidonique	nr	MC	nr
Molécules d'adhésion sélective	Alicaforsen	ICAM1	antisens	MC + RCH	en phase clinique
	MLN02	intégrine 47	anticorps	RCH	en phase clinique
	Natalizumab	intégrine 4	anticorps	MC	en phase clinique
Stimulation de l'immunité innée	Abatacept	macrophages, cellules dendritiques	peptide	MC + RCH	en phase clinique
	G-CSF	granulocytes	peptide	MC	en phase clinique
	GM-CSF	macrophages, granulocytes	peptide	MC	en phase clinique
	Sargramostim	macrophages, monocytes	molécule bactérienne recombinante	MC	en phase clinique
	Tétilomast (OPC-6535)	granulocytes	thiazole (inhibiteur PDE4)	RCH	en phase clinique
Réparation intestinale	Acétate, butyrate, propionate...	cellules épithéliales?	acides gras à chaîne courte	RCH	en phase clinique
	EGF	cellules épithéliales	peptide	RCH	en phase clinique
	GH	IGF1	peptide	MC	en phase clinique
	Héparine	facteurs de croissance	molécule de petite taille	RCH	en phase clinique
	HGH (somatotropine)	cellules épithéliales	peptide	MC	en phase clinique
Élimination du processus de présentation antigénique	KGF-2 (répifermine)	cellules épithéliales	peptide	RCH	en phase clinique
	Colonnes d'acétate de cellulose	leucocytes	aphérèse	RCH	en phase clinique
	Colonnes en fibres de polyéthylènephtharate	leucocytes	aphérèse	RCH	en phase clinique
	Diète stricte	flore commensale?	réduit la charge antigénique	MC	en phase clinique
	E. coli Nissle 1917	équilibre de la flore intestinale	pro-biotique	MC + RCH	en phase clinique
	Œufs de Trichuris suis	cellules T?	helminthe	MC + RCH	en phase clinique
	Transplantation autologue de moëlle osseuse	cellules T?	nr	MC	en phase clinique
Exérèse du tissu malade	VSL#3	équilibre de la flore intestinale pro-biotique		MC + RCH	en phase clinique
	Résection	intestin, côlon et rectum	chirurgie	MC + RCH	validé
Divers	BPI	flore commensale	peptide	MC	en phase clinique
	Epanova	radicaux libres	acide gras oméga-3	MC	en phase clinique
	Krémezine (AST-120)	nr	charbon actif	MC	en phase clinique
	Patch de nicotine	nr	nr	RCH	nr

nr: non renseigné

BPI: bacterial-permeability-increasing protein

PEG: pégylé

Tableau IX. Différentes approches du traitement des MICI. D'après Baumgart & Sandborn 2007, Korzenik & Poldolsky 2006, Podolsky 2002.

A.III.4. Traitements alternatifs

Inhibiteurs de l'adhésion leucocytaire

Certains médicaments récemment développés visent à inhiber la diapédèse et ainsi à limiter l'afflux de leucocytes au niveau de la muqueuse enflammée. Par exemple, un anticorps recombinant (natalizumab) dirigé contre la sous-unité d'un récepteur d'adhésion cellulaire, l'intégrine $\alpha 4$, a été testé en clinique et cet essai rapporte un taux de remission 2 fois supérieur à celui du groupe contrôle chez des patients avec une MC (Ghosh et al., 2003).

Thérapie helminthique

Il existe une corrélation négative entre l'infection parasitaire par les helminthes et la survenue d'une MICI. Cette observation a conduit à l'évaluation de la thérapie helminthique dans le traitement des MICI. La thérapie helminthique consiste en l'ingestion d'œufs de *Trichuris suis* et d'ankylostomes par le patient. Deux études cliniques contrôlées et randomisées ont démontré que l'administration bi-mensuelle de 2500 œufs de *Trichuris suis* améliore les symptômes dans les formes actives de MC et de RCH (Summers et al., 2005a; Summers et al., 2005b).

En conclusion, aucun des traitements actuels n'est spécifique de la MC ou de la RCH. De plus, ils ne ciblent généralement que les événements en aval de la cascade inflammatoire ce qui entraîne une efficacité partielle et de nombreux effets indésirables (Tableau X).

Effets délétères des traitements des MICI	
Type de traitement	Effets nocifs observés
Résection chirurgicale	Syndrome de l'intestin court, diarrhées, crampes, ballonnements, brûlures d'estomac
Anticorps anti-TNF	Réaction d'hypersensibilité, réaction cutanée sur le lieu de l'injection, démyélination (neurite optique, scléroses multiples), lupus, infections, tumeurs
Corticoïdes	Hypertension, acnée, infections, psychose, troubles endocriniens (diabète de type II, prise de poids, hirsutisme), osseux (ostéonécrose, ostéoporose) et ophtalmologiques (cataracte, glaucome)
Sulfalazine	Intolérance digestive, réaction allergique
Anti-métaboliques	Eruption cutanée, pancréatite, malaise, nausée, diarrhée, thrombocytopénie, hépatite, hyperplasie nodulaire régénérative, leucopénie
Immuno-suppresseurs	Hypertension, migraine, paresthésie, convulsion (ciclosporine), hyperplasie gingivale (ciclosporine), hypertrichose (ciclosporine), diabète de type II (tacrolimus), anaphylaxie (tacrolimus), infections (septiques et opportunistes), insuffisance rénale

Tableau X. Effets indésirables dans les différents traitements des MICI.

Le défi thérapeutique dans les MICI est le développement d'approches personnalisées grâce à la pharmaco-génétique afin de prévenir l'initiation et la perpétuation de la cascade inflammatoire avant la lésion tissulaire. Cette approche implique l'induction ou le rétablissement de la tolérance immunologique par la reconstitution de la flore intestinale, l'introduction de microbiotes modifiés de manière à stimuler des réponses immunitaires régulatrices, le blocage des récepteurs reconnaissant certains motifs antigéniques pathogènes, le blocage de protéines de signalisation ou la génération de cellules T régulatrices par des cellules dendritiques rendues tolérogènes.

B. Syndrome de l'intestin irritable

B.I. Description

B.I.1. Nosologie

B.I.1.a. Définition clinique

Définition

Le SII est un trouble fonctionnel intestinal qui se caractérise par une douleur abdominale diffuse et irradiante. Cette douleur viscérale touche le plus souvent les régions abdominales basses correspondant au côlon distal et au rectum. Elle est associée à des troubles du transit intestinal, des ballonnements et parfois une allodynie lombaire référée (Maxwell et al., 1997; Drossman et al., 2002). Aucune anomalie structurale ou biochimique n'est identifiée par les techniques standardisées d'anatomo-pathologie dans les biopsies de patients (Kirsch and Riddell, 2006).

Classification

On distingue trois sous-types de SII en fonction de la symptomatologie dominante : le SII avec prédominance de diarrhées (SII-D), le SII avec constipation (SII-C), le SII avec alternance de diarrhées et de constipation (SII-A). Le SII post-infectieux (SII-PI) est un

quatrième sous-type désignant un SII dont l'apparition est consécutive à une infection gastro-intestinale (Drossman et al., 2002).

B.I.1.b. Symptomatologie

Signes cliniques

Les symptômes cardinaux du SII sont la douleur abdominale, les perturbations du transit tels que la diarrhée ou la constipation et un inconfort général qui est soulagé par la défécation. Les symptômes suivants sont fréquemment retrouvés : ballonnements résultant d'un défaut de la propulsion intestinale et apparaissant souvent suite à l'ingestion de lipides (Serra et al., 2002; Salvioli et al., 2006), éructations, mauvaise haleine, nausée, fatigue, migraine et anxiété.

Outre "l'irritabilité" du côlon, le SII est aussi associé à une hyper-sensibilité de la partie supérieure du tractus gastro-intestinal (Trimble et al., 1995) ce qui indique l'existence d'une HSV chez les patients atteints de SII. Cette hypothèse va dans le sens de données rapportant une perception accrue des contractions intestinales normales chez les patients (Kellow et al., 1991). Ce trouble perceptuel serait bien spécifiquement viscéral car, contrairement aux patients fibromyalgiques par exemple, le SII n'est pas associé à une hyper-sensibilité aux stimuli nociceptifs somatiques (Cook et al., 1987). Cependant, une forte composante psycho-somatique existe dans le SII puisque la perception colique, évaluée par le test de distension colo-rectale, est modifiable par l'attention, l'anxiété et la relaxation (Naliboff and Mayer, 2006).

Signes anatomo-pathologiques

Aucune atteinte structurale, biochimique ou inflammatoire de l'intestin n'est rapportée par les techniques anatomo-pathologiques de routine dans le SII. Cependant, des analyses plus pointues ont récemment permis la description de caractéristiques micro-inflammatoires (Kirsch and Riddell, 2006).

Analyses biologiques

L'étude des selles des patients avec un SII ne révèle pas la présence de marqueurs inflammatoires (Lettessjo et al., 2006). Cependant, il existerait une modification de la flore fécale des patients atteints avec une concentration diminuée de coliformes, de

lactobacilles et de bifidobactéries et une concentration augmentée de pseudomonas et d'entérobactéries (Codling et al., 2009).

A notre connaissance, une seule étude rapporte un profil sérologique pro-inflammatoire avec une augmentation d'IL6 et d'IL8 sanguins (Dinan et al., 2006).

B.I.1.c. Diagnostic

Diagnostic d'exclusion

En l'absence de cause biochimique clairement identifiée, il n'existe aucun marqueur biologique et donc aucun test de laboratoire spécifique du SII. Le diagnostic du SII est exclusivement basé sur la symptomatologie¹ et l'anamnèse. Il faut cependant noter qu'une équipe est pourtant en train de développer un modèle de diagnostic sur la base de l'analyse d'une combinaison de marqueurs sérologiques (Lembo et al., 2009). Compte tenu du caractère systémique et aspécifique des symptômes, le faisceau d'indices cliniques devra être complété par une démarche d'exclusion des pathologies produisant des symptômes SII-like (van Zanten, 2003).

Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel vise à écarter les pathologies organiques exprimant une symptomatologie similaire à celle du SII (Smout et al., 2000). Au rang desquelles on trouve : les infections gastro-intestinales, l'intolérance au lactose et les allergies alimentaires, la maladie coeliaque, le déficit en fer, la MC, la diverticulite, la fibromyalgie, le syndrome de fatigue chronique, les parasites, la turista (ou diarrhée du voyageur – billet retour). La plupart de ces maladies peuvent être identifiées par les analyses classiques d'urine, de selles ou de sang.

Critères diagnostiques

Afin de faciliter le diagnostic, plusieurs critères ont été proposés. Le diagnostic selon les critères de Manning repose sur la présence ou l'absence des symptômes

¹ L'hyper-sensibilité colique est régulièrement proposée comme marqueur biologique pour ses bonnes sensibilité et prédictivité mais elle ne serait en fait pertinente que pour le SII-D et serait peu spécifique car très sujette à variation sous l'influence des processus de vigilance et d'anticipation.

douloureux et intestinaux (Manning et al., 1978). Cependant, ces critères ont une sensibilité et une spécificité faibles (58 et 74% respectivement) (van Zanten, 2003) ce qui a conduit à établir des critères de référence prenant en compte le décours temporel des symptômes et permettant la discrimination du SII par rapport aux maladies intestinales organiques. Ces critères, appelés critères de Rome, sont réactualisés tous les 10 ans et font du diagnostic du SII un diagnostic d'inclusion. Les critères de Manning, de Rome I (Thompson et al., 1989), de Rome II (Thompson et al., 1999) et de Rome III (Drossman et al., 2006) sont présentés dans le Tableau XI.

Critères diagnostiques du SII (basés sur la symptomatologie)			
Critères de Manning (1978) Symptomatologie stricte	Critères de ROME I (1994) Symptomatologie stricte	Critères de ROME II (2000) Fréquence des symptômes	Critères de ROME III (2006) Fréquence des symptômes
(1) Douleur abdominale soulagée par la défécation	Au moins 12 semaines avec les symptômes suivants, de façon continue ou épisodique :	Au moins 12 semaines de gêne et/ou douleurs abdominales, continues ou épisodiques, sur une période de 12 mois et associées à au moins 2 des 3 caractéristiques suivantes :	Au moins 12 semaines de gêne et/ou douleurs abdominales, continues ou épisodiques, sur une période de 6 mois et associées à au moins 2 des 3 caractéristiques suivantes durant les 3 derniers mois :
(2) Selles molles au début des épisodes douloureux			
(3) Selles plus fréquentes au début des épisodes douloureux	-douleur abdominale ou gêne : (1) soulagée par la défécation ou (2) associée à un changement dans la fréquence des selles ou (3) associée à un changement dans la consistance des selles		
(4) Distension abdominale			
(5) Passage de mucus dans les selles	-au moins 2 de ces symptômes, sur plus d'un quart de la période : (1) fréquence, (2) forme ou (3) passage des selles modifiés, (4) passage de mucus, (5) ballonnements ou sensation de distension abdominale		
(6) Sensation d'évacuation incomplète			

Tableau XI. Critères diagnostiques du SII. D'après Mostafa 2008; Brandt *et al.*, 2002.

Plusieurs algorithmes diagnostiques ont également été proposés (Camilleri, 2001; Brandt et al., 2002; Lacy, 2003) et la Figure 5 expose le processus classique d'évaluation clinique.

B.I.1.d.Poids économique et social

Coût humain

Le SII n'est pas une maladie grave. Cependant, malgré la bénignité de ses symptômes, sa chronicité, la survenue brutale des douleurs abdominales et la fatigue qui y sont associées en font une maladie très invalidante. Le SII entraîne une perte de la qualité de vie, un inconfort et un stress chronique. Toutefois, le taux de mortalité des patients est semblable à celui de la population générale (Hulisz, 2004).

Coût économique

Aux USA, la prise en charge médicale du SII induit 2 à 20 milliards de dollars de coûts médicaux directs et 20 milliards de dollars de coûts indirects (perte de productivité,

absentéisme) (Sandler et al., 2002). En France, le coût annuel lié directement au SII est évalué à 800 euros par patient (Brun-Strang et al., 2007).

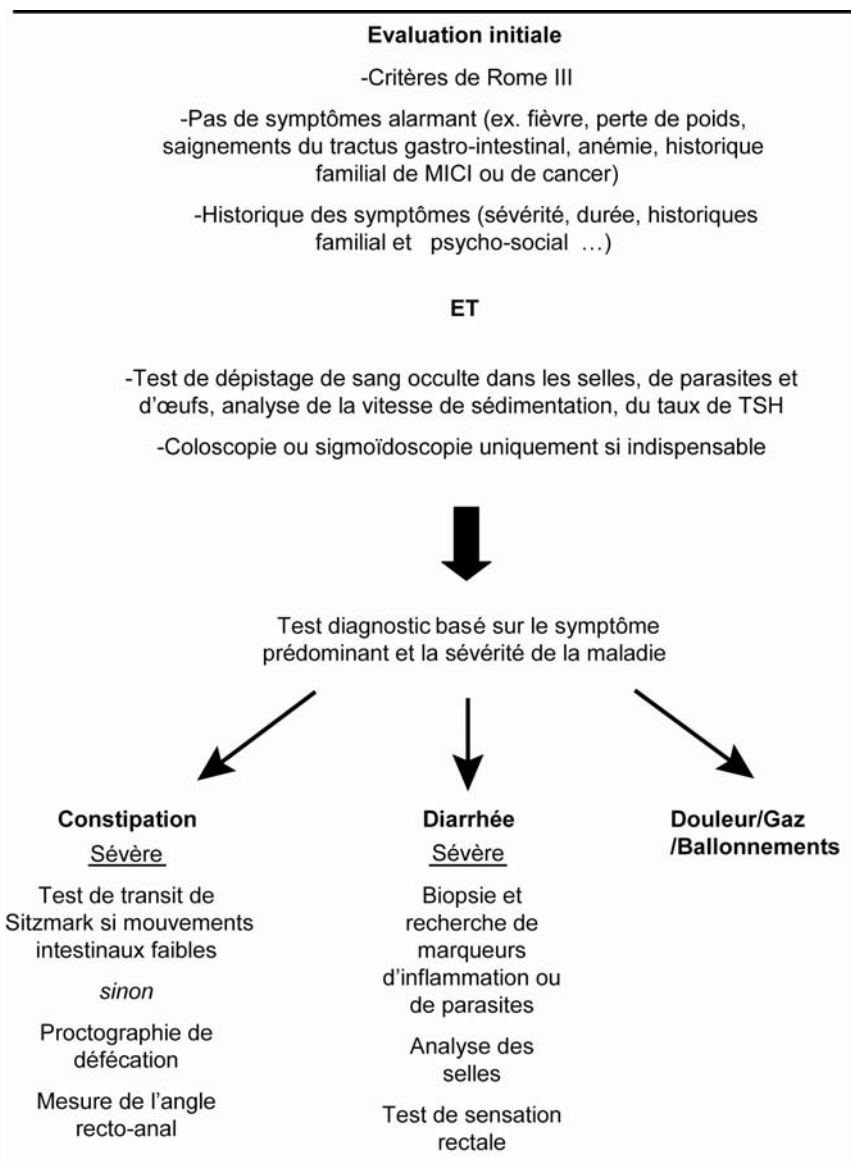


Figure 5. Evaluation clinique du SII. D'après Drossman et al., 2002.

B.I.2. Epidémiologie

Ces données ont d'importantes implications financières pour la sécurité sociale au regard de l'incidence et de la prévalence très élevées dans les populations occidentales et de l'inefficacité des traitements (Drossman et al., 2002).

B.I.2.a. Incidence et prévalence

Incidence et prévalence

Aux USA, l'incidence est évaluée à 0,2 à 1% par an et la prévalence serait de 3 à 20% selon les études (Brandt et al., 2002; Drossman et al., 2002). Cette variabilité de l'incidence et de la prévalence est due à l'analyse des données (entretien clinique ou questionnaire), au choix des critères de diagnostic (Rome I, II ou III), à la non-représentativité des échantillons¹, aux facteurs culturels, à la présence et au degré de douleur qui rendent les études épidémiologiques difficiles à interpréter.

Des caractéristiques sont cependant définissables. L'âge d'apparition du SII s'échelonne entre 25 et 40 ans avec une médiane à 35 ans mais son déclenchement peut avoir lieu à tout âge. Sa prévalence décline avec les années. Le SII est ainsi peu diagnostiqué après 60 ans, probablement parce que les maladies organiques prennent alors le pas sur les troubles plus bénins (Bennett and Talley, 2002). Il n'y a pas de forme infantile mais les adolescents et les collégiens sont sur-représentés, hypothétiquement parce qu'ils seraient plus exposés au stress chronique des études. La prévalence du SII semble être identique en Amérique, en Asie et en Europe même si certains foyers très touchés ont été décrits au Mexique. Il touche aussi bien les Caucasiens, les Africains et les Asiatiques sans distinction raciale ou ethnique. Enfin, les prévalences des différents sous-type de SII (SII-D, SII-C et SII-A) sont identiques.

Sex ratio

Le SII est plus souvent diagnostiqué chez les femmes, notamment la forme SII-C. Il y a une forte prédominance féminine avec un sex ratio établi à 2:1 pour les diagnostics réalisés grâce à des questionnaires et à 3-4:1 pour les diagnostics réalisés en cabinet² (Chial and Camilleri, 2002).

¹ Par exemple, aux USA, près de 70% de la population n'a pas accès aux soins médicaux.

² Cette différence pourrait s'expliquer, en partie, par le fait que les femmes recherchent plus souvent la prise en charge et les avis médicaux que les hommes.

B.I.2.b. Morbidité

Maladies inflammatoires, systémiques et essentielles

La qualité de vie des malades du SII est très souvent encore détériorée par la co-existence de migraines, de fibromyalgie, de syndrome de fatigue chronique, de dyspepsie, de maladie coeliaque, de MC, d'endométriose ou de cystite interstitielle. Rappelons qu'il n'existe aucune preuve de prévalence accrue de SII dans les familles atteintes de MICI ; et réciproquement. Le SII est également fortement associé à un historique de chirurgie abdominale, pelvique ou biliaire (Riedl et al., 2008).

Troubles psychiatriques

Cause ou conséquence, les symptômes sont souvent intimement liés à des événements de vie traumatisants et à des troubles d'ordre psycho-somatiques. Recherche pathologique d'attention médicale, hypocondrie, historique d'abus moraux, sexuels ou physiques, amplification somato-et viscéro-sensorielle, alexithymie ainsi que dépression, anxiété et phobies (Porcelli, 2004; Kovacs and Kovacs, 2007) sont fréquemment retrouvés chez les malades de SII.

B.II. Etiologie

L'étiologie du SII est presque complètement inconnue. Contrairement aux MICI, l'absence de substrat biologique pouvant expliquer le développement et l'expression du SII ne permet pas l'exploration de pistes physio-pathologiques concrètes. Les différentes formes cliniques du SII sont difficilement explicables par une cause commune aux symptômes, telle que l'hyper-sensibilité colique qui de plus n'est pas systématiquement observée.

Le SII est une pathologie multi-factorielle. L'inter-relation entre des facteurs génétiques, environnementaux (flore commensale, infection) et culturels (nutrition) est conciliable avec l'hypothèse d'une dérégulation de l'axe cerveau-intestin, hypothèse la plus prometteuse actuellement et supportée par les récentes découvertes de signes micro-inflammatoires dans le SII.

B.II.1. Génétique

B.II.1.a. Etudes familiales

Les études d'agrégation du SII au sein de familles montrent un risque multiplié par 2 à 3 de développer un TFI si un apparenté est lui-même touché (Saito and Talley, 2008). L'existence d'une réelle contribution génétique au SII a été mise en évidence par deux études chez les jumeaux qui rapportent un risque 2 fois plus élevé chez les jumeaux monozygotes que chez les dizygotes (Morris-Yates et al., 1998; Levy et al., 2001). Cependant, même chez les jumeaux, la présence du SII chez le père ou la mère est un meilleur prédicteur que sa présence chez un jumeau. Ces résultats suggèrent que le rôle des gènes est mineur dans l'étiologie du SII.

B.II.1.b. Etudes d'association et de liaison génétiques

Les études d'association et de liaisons génétiques restent encore très peu nombreuses et ont échoué à mettre en évidence un gène causal, principalement parce que les différents phénotypes de SII et les facteurs environnementaux permettant d'identifier des gènes d'intérêt sont encore mal définis (Park and Camilleri, 2005). Malgré cela, la recherche génétique naissante dans le SII a mis en avant quelques gènes candidats. Des polymorphismes ont été retrouvés dans les gènes codant les cytokines anti-inflammatoires IL10 et TGF β 1 (Gonsalkorale et al., 2003), dans les gènes codant le transporteur de la sérotonine SERT, les récepteurs adrénergiques α 2A et α 2C (Camilleri et al., 2002; Coates et al., 2004) qui ont un rôle dans la régulation de la motricité intestinale et dans le gène codant le canal sodique SCN5A (Na_v1.5) dont l'expression dans les cellules interstitielles de Cajal et dans les muscles lisses circulaires de l'intestin humain suggère un rôle moteur (Saito et al., 2009). Les patients ayant des mutations du gène SCN5A mentionnent plus souvent des symptômes gastro-intestinaux, en particulier de la douleur abdominale (Saito et al., 2009).

B.II.2. Environnement biologique

B.II.2.a. Infections

L'infection par des organismes pathogènes détériore la muqueuse intestinale et altère la composition de la flore commensale ce qui peut induire une dysfonction intestinale prolongée. Six à 17% des patients déclarent que leurs symptômes de SII ont commencé après une infection ce qui est cohérent avec les études prospectives qui montrent une forte incidence de SII-PI après une gastro-entérite (Spiller, 2007).

La gastro-entérite d'origine virale est un facteur de risque important de développement de SII-PI (Chaudhary and Truelove, 1962; Parry et al., 2003a, 2003b). Après une gastro-entérite aiguë, 7 à 32% des sujets développent des symptômes de type SII à long terme (Spiller et al., 2000; Spiller, 2003b). La virulence, le sexe féminin, le jeune âge, la durée et l'usage d'antibiotiques pendant l'infection sont des facteurs aggravants (Neal et al., 1997).

Chez les patients présentant un SII post-dysenterie, le lien entre infection préalable et développement d'une inflammation chronique est confirmé par la présence persistante de cellules neuro-endocrines et de lymphocytes T dans la muqueuse rectale et par l'augmentation de la perméabilité intestinale (Spiller et al., 2000). Les bactéries responsables de ces gastro-entérites sont *Helicobacter pylori* (Gerards et al., 2001) ou les bactéries du genre *Campylobacter* (Spiller et al., 2000), *Salmonella* (McKendrick and Read, 1994; Mearin et al., 2005) et *Shigella* (Wang et al., 2004; Spiller, 2007).

B.II.2.b. Dysbiose

Plusieurs études ont mis en évidence l'existence d'une prolifération excessive des bactéries commensales de l'intestin grêle dans le SII grâce au test d'expiration de lactulose (Riordan et al., 1996; Pimentel et al., 2003). Des études de la microflore fécale rapportent un excès de bactéries coliformes et un ratio aérobie/anaérobie augmenté chez les patients atteints de SII (Malinen et al., 2005; Matto et al., 2005). A l'inverse, les bactéries des genres *Coprococcus*, *Collinsella*, *Lactobacillus* et *Coprobacillus* sont retrouvées à un niveau réduit dans les fèces (Kassinen et al., 2007). Ces résultats

suggèrent qu'un déséquilibre des populations bactériennes commensales pourrait être impliqué dans le SII. L'existence d'une telle dysbiose est étayée par des modifications de la concentration fécale en carbohydrates (acétate, propionate et butyrate), qui sont des substrats énergétiques de la microflore, chez les patients SII-D (Mortensen et al., 1987; Treem et al., 1996).

B.II.3. Environnement socio-psycho-culturel

B.II.3.a. Régime alimentaire

Bien qu'aucune étude clinique contrôlée randomisée n'ait confirmé cette hypothèse, le rôle des aliments dans la symptomatologie du SII a souvent été évoqué. L'excès de nourriture, et principalement de carbohydrates et de lipides, associé à un défaut de fibres alimentaires serait responsable d'une sur-production de gaz chez les patients (Dapoigny et al., 2003). De plus, l'hypothèse d'une allergie alimentaire est très fréquente et l'intolérance au lactose est souvent décrite chez les malades. Les disaccharides (fructose ou sorbitol) peuvent entraîner une diarrhée osmotique. Oignon, choux, petit pois, poivre, caféine et alcool sont les autres aliments suspectés (Burden, 2001).

B.II.3.b. Troubles psychologiques

Les patients avec un SII présentent fréquemment des troubles psychologiques. La somatisation, l'anxiété, l'hypochondrie, la dépression et les phobies sont communes chez les patients (Porcelli, 2004). Cependant, des études de larges cohortes de patients ont permis de mettre en évidence que ces troubles psychologiques ne concernent qu'une sous-population de malades qui recherche des soins médicaux et en particulier l'avis de spécialistes (Gaynes and Drossman, 1999; Herschbach et al., 1999). En revanche, l'historique d'abus sexuels ou physiques et d'événements émotionnels intenses et nombreux au cours de la vie est une donnée épidémiologique solide (Drossman et al., 1996a; Drossman et al., 1996b). Cependant, si le stress affecte la fonction digestive motrice et la perception viscérale (Monnikes et al., 2001) et ce, avec d'autant plus d'intensité que le sujet est jeune (Ladd et al., 2000), il est plus probable qu'il soit responsable d'une aggravation des symptômes que de leur cause (Bennett et al., 1998).

B.III. Traitements

Non seulement le SII n'est associé à aucun marqueur biochimique mais de plus, aucun facteur de risque ne semble robustement corrélé à son apparition. Encore plus problématique, l'effet placebo est très important dans le SII puisque les pourcentages de réponse au placebo des différents traitements proposés pour le SII s'échelonnent de 20 à 70% lors d'études contrôlées randomisées (Akehurst and Kaltenthaler, 2001). Cette réponse placebo ne s'atténue pas avant plusieurs mois et peut persister jusqu'à 1 an. Jusqu'à 30% de cette réponse est maintenue alors même que l'aveugle est dévoilé aux patients. Ces résultats montrent à quel point l'aspect psychologique est important dans le SII et pourquoi la recherche de traitements de fond reste relativement vaine.

B.III.1. Stratégies thérapeutiques

En dépit de l'ignorance de l'étiologie du SII, de nombreux traitements ont été développés. L'ensemble de ces traitements est décrit pour revues par (Jailwala et al., 2000; Kamm, 2002; Floch, 2003; Talley, 2003; Johanson, 2004). La galénique et la posologie sont décrites dans le détail par Spiller *et al.* (Spiller, 2003a).

La première étape de la prise en charge des patients atteints de SII est d'établir un diagnostic positif du syndrome. Le choix du traitement est ensuite déterminé par le type et la sévérité de la symptomatologie ainsi que par l'importance des facteurs psychologiques (Figure 6) (Delvaux and Gay, 2005).

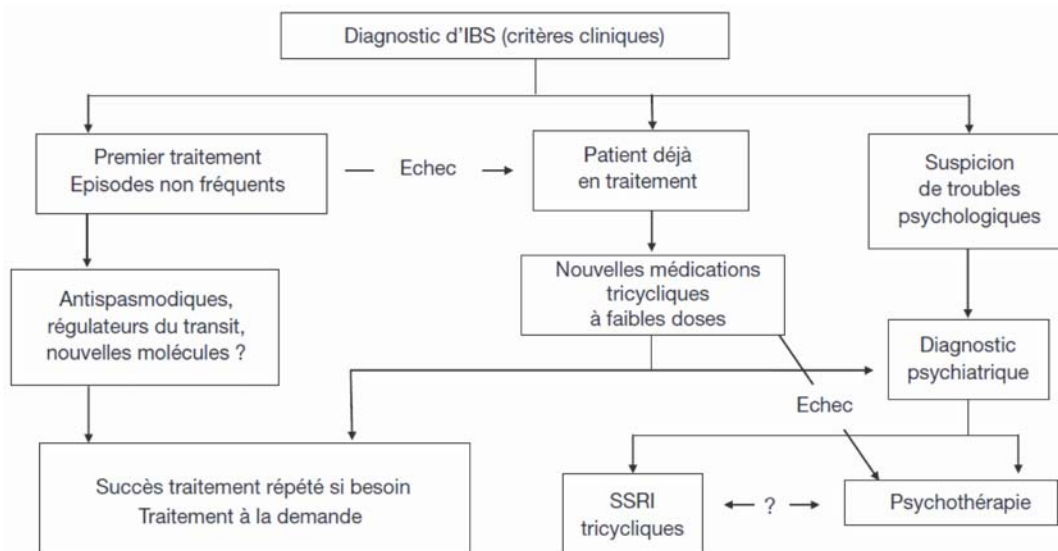


Figure 6. Stratégies thérapeutiques dans le SII. Delvaux & Gay, 2005.

B.III.2. Traitements non pharmacologiques

B.III.2.a. Diète et hygiène de vie

Régimes d'exclusion

Certains produits tels que le café (qui stimule la motilité colique et la sécrétion gastrique), les sodas, l'alcool (qui induit une diarrhée en diminuant le temps de transit par des mécanismes neuronaux), le lactose, le maïs, le blé ou les graisses peuvent contribuer à la symptomatologie du SII (Dapoigny et al., 2003). La réduction de la consommation de ces produits peut s'avérer utile. De même, dans les cas d'intolérance alimentaire, la mise en place de diètes d'éliminations ou d'exclusion peut être bénéfique (Burden, 2001). Les carbohydrates (fructose, sorbitol, mannitol, xylitol¹) peuvent induire des diarrhées osmotiques. Leur ingestion doit être limitée dans les cas de SII-D même si aucune étude de qualité n'a pu apporter une preuve de malabsorption du lactose ou du fructose dans le SII.

Fibres alimentaires et agents de charge

Les fibres alimentaires (20 à 30 g/j) auraient un effet positif sur les symptômes du SII-C (Camilleri, 2001). Les patients SII-C ne consomment pas moins de fibres que les sujets contrôles (Jarrett et al., 1994) mais dans ce sous-groupe, elles allègeraient les douleurs abdominales en accélérant le transit oro-anal et en diminuant la pression intracolique, la contractilité colique et la concentration colique d'acides biliaires. Les fibres de maïs et le son de blé sont les fibres les mieux documentées pour le traitement du SII (Burden, 2001). Cependant, les fibres ne sont pas des substances inertes et une consommation excessive de poly-saccharides non-amidonnés insolubles peut provoquer un inconfort et des ballonnements abdominaux en augmentant le volume résiduel de la digestion et la production de gaz intestinaux par fermentation bactérienne. Pour cette raison, des agents de charge leur sont souvent préférés. Les agents de charge sont des composés autres que l'eau qui lestent une denrée alimentaire sans en modifier

¹ A titre d'exemple, la consommation excessive de chewing gum au xylitol peut provoquer une diarrhée osmotique inattendue (cf. House MD, S02E06).

sensiblement la valeur calorique. Outre les fibres alimentaires sus-mentionnées, les fibres solubles végétales comme l'ispaghula et le psyllium (tirés de la plante indienne *Plantago ovata*) sont efficaces dans le SII-C en accélérant le transit intestinal. Le charbon de bois, le cromoglycate et le calcium poly-carbophile sont également utilisés (Brandt et al., 2002). Globalement, il semble que les agents de charge et les fibres alimentaires n'ont pas plus d'effet que le placebo (Burden, 2001).

B.III.2.b. Pro- et pré-biotiques

La description des SII post-dysenterie a permis l'émergence de l'hypothèse qu'une dysbiose pourrait induire le développement du SII. Des recherches portent ainsi sur le ré-équilibrage des populations bactériennes commensales grâce à l'utilisation de pré- et de pro-biotiques (Camilleri, 2008; Moayyedi et al., 2008).

Parmi les nombreux micro-organismes introduits dans les produits laitiers fermentés pour améliorer la physiologie digestive, les pro-biotiques les plus utilisés sont des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacteria*. Ces micro-organismes contribuent au maintien de l'intégrité de la muqueuse par la synthèse de vitamines K et B et au transit intestinal en stimulant la production d'acides biliaires et en assurant la fermentation des résidus indigestibles. Les essais étudiant l'effet des pro-biotiques sur le SII indiquent une tendance à l'atténuation des symptômes (Floch, 2005). L'utilisation du mélange VSL#3[®] (Kim et al., 2003; Kim et al., 2005), du mélange *Escherichia coli* + *Enterococcus faecalis* (Enck et al., 2008) ou de *Lactobacillus acidophilus* (Sinn et al., 2008) pendant quelques semaines améliore la symptomatologie globale chez les patients. Les pro-biotiques sont un traitement alternatif à prendre en compte car dépourvu d'effet indésirable.

Les pré-biotiques sont également une option thérapeutique par leur effet symbiotique avec les pro-biotiques. En dépit du manque d'études disponibles actuellement, le son et les fructo-oligo-saccharides semblent porteurs de promesses (Macfarlane et al., 2009). Un trans-galactooligosaccharide (Silk et al., 2009), des produits industriels Actilight[®] contenant un oligosaccharide à chaîne courte (Colecchia et al., 2006) et le produit Prescript-Assist[®] contenant un mélange pré-/pro-biotiques (Bittner et al., 2007) sont capables de soulager les symptômes.

B.III.3. Traitements pharmacologiques

B.III.3.a. Agents affectant le transit intestinal

Agents pro-kinétiques (laxatifs)

En fonction de la sévérité de la constipation, on pourra utiliser dans un premier temps les fibres alimentaires (25g/j) puis des laxatifs osmotiques comme le lait de magnésium, le sorbitol ou le poly-éthylène glycol. D'autres laxatifs tels que l'ispaghula, la sterculia, le bisacodyl, la phénolphthaléine, le danthron ou l'acide ricinoléique pourront également être utilisés (Brandt et al., 2002).

Anti-diarrhéiques

Le loperamide, la codéine et le diphénoxylate sont des agonistes des récepteurs μ -opioïdiques périphériques et exercent leur action sur les neurones des plexus myentériques de l'intestin. Ces drogues peuvent être utilisées pour le traitement du SII à prédominance diarrhéique qui est associé à une accélération des transits du grêle et du côlon proximal. Le loperamide (2 à 4 mg, 1 à 4 fois/j) est un opioïde synthétique qui diminue le transit intestinal, augmente la réabsorption d'eau et d'ions et augmente le tonus du sphincter anal au repos (Brandt et al., 2002). Le loperamide est préférable au diphénoxylate qui contient de l'atropine et par conséquent peut induire des effets indésirables (dysfonction de la vessie, glaucome, tachycardie...) et à la codéine qui peut franchir la barrière hémato-encéphalique et induire des effets centraux.

La choléstyramine est un agent séquestrant des sels biliaires. La malabsorption des sels biliaires au niveau de l'iléon provoque un afflux osmotique d'eau dans le côlon et une diarrhée. La choléstyramine prévient cet afflux en rendant les sels biliaires insolubles. L'utilisation de la choléstyramine est limitée par sa très mauvaise compliance liée à son mauvais goût et sa mauvaise palatabilité (Camilleri, 2001).

Relaxants des muscles lisses

Les relaxants des muscles lisses (ou anti-spasmodiques) diminuent le péristaltisme intestinal et peuvent être prescrits dans les cas de diarrhée, de ballonnements et de douleur abdominale. Deux grandes familles sont distinguées: les anti-cholinergiques muscariniques et les bloqueurs des canaux calciques de type L. De nombreux anti-

cholinergiques muscariniques existent : dicyclomine, hyoscyamine, le bromure de cimétropium, le bromure de propanthéline, la mébévérine, la trimébutine et la teinture de belladonne (Brandt et al., 2002). Les antagonistes des canaux calciques sont le bromure d'octylonium, le bromure de pinavérium et la nifedipine (Brandt et al., 2002).

B.III.3.b. Modulateurs sérotoninergiques

Agents psychotropes

Le traitement du SII fait appel à deux familles d'agents psychotropes : les anti-dépresseurs tricycliques (ADTC: amitriptyline, désipramine, imipramine, doxépine, nortryptiline, fluphénazine, venlafaxine, mirtazapine) et les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS : fluoxétine, sertraline, paroxétine, citalopram). Leur emploi se justifie par leur triple effet : (1) sur la prise en charge médicamenteuse des affections psychiatriques co-morbides (dépression, anxiété...) ; (2) sur la physiologie du tractus gastro-intestinal (sensibilité, motilité et sécrétion) et (3) sur la perception centrale de la douleur viscérale (Fishbain, 2000; Hobson and Aziz, 2007). Employés à des doses plus faibles que celles utilisées pour la dépression, les ADTC et ISRS diminuent l'HSV indépendamment de leurs propriétés antidépresseives (Fishbain, 2000). Hormis la douleur abdominale, les ADCT ne montrent pas plus d'effet que le placebo pour le soulagement global des symptômes (Jackson et al., 2000; Clouse, 2003), probablement parce que les essais cliniques entrepris jusqu'à présent sont de courte durée et n'incluent que trop peu de patients (Brandt et al., 2002). De plus, les propriétés anti-cholinergiques des ADTC provoquent des effets indésirables tels que constipation, somnolence, incontinence et assèchement des muqueuses ce qui limite leur utilisation sur la durée. Dans certains cas de patients SII-D ayant des symptômes sévères ou réfractaires, les ISRS peuvent représenter une alternative aux ADTC.

Antagonistes des récepteurs 5HT3

Les sétrons (alosétron, cilansétron, granisétron, ondansétron et tropisétron) sont des antagonistes des 5HT3R et permettent de soulager les symptômes douloureux dans le SII en inhibant la motricité intestinale et la douleur abdominale. Ils provoquent un ralentissement du transit colique sans modifier le temps de transit intestinal ni le temps de vidange gastrique (Zighelboim et al., 1995). L'effet anti-diarrhéique des sétrons

s'expliquerait par une augmentation de la réabsorption d'eau (Banner and Sanger, 1995) tandis que l'effet antalgique s'expliquerait par une diminution de la sensibilité colique (Prior and Read, 1993) mais aussi probablement par le blocage du message nociceptif viscéral transduit par les 5HT_{3R} spinaux (Bueno et al., 2007). Cependant, en raison d'important effets indésirables, et en particulier du développement de colites ischémiques, les sétrons n'ont pas obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM).

Agonistes des récepteurs 5HT₄

Le tégasérod et le cisapride sont des agonistes partiels des 5HT_{4R}. Ils ont des effets pro-kinétiques sur le tractus gastro-intestinal en stimulant le réflexe péristaltique (Prather et al., 2000), en accélérant les transits intestinal et colique et en diminuant le niveau d'activation des afférences rectales. Ils ont également un effet antalgique en réduisant la sensibilité viscérale (Coffin et al., 2003) et peuvent ainsi améliorer la symptomatologie des patients avec un SII-C. Le tégasérod s'est montré plus efficace que le placebo chez la femme avec SII-C dans plusieurs études randomisées contrôlées (Brandt et al., 2002). Mis sur le marché américain en 2002, le tégasérod a ensuite été interdit par la Food and Drug Administration (FDA) après qu'il ait été associé à l'induction de diarrhées sévères et de troubles cardio-vasculaires graves. De la même façon, le cisapride n'a pas été commercialisé car son utilisation s'accompagne de forts risques cardio-vasculaires. L'agoniste total prucalopride a été peu étudié. Il a également un effet pro-kinétique sur le côlon et accélère le transit mais, s'il pourrait s'avérer utile dans les cas de constipation, aucun effet sur la douleur n'a été décrit à ce jour (Brandt et al., 2002).

B.III.3.c. Médicaments en cours d'évaluation clinique

Agonistes des récepteurs 5HT₁

La buspirone (agoniste 5HT_{1A}, anxiolytique) et le sumatriptan (agoniste 5HT_{1B} et 1D, anti-migraineux) réduisent les réponses colique et gastrique à la distension et pourraient avoir un rôle à jouer dans le traitement du SII. La buspirone a de plus des effets anxiolytiques pouvant compléter son action sur la symptomatologie du SII (Kamm, 2002).

Antagoniste du récepteur CCK₁

La cholécystokinine (CCK) est une hormone peptidique sécrétée par la muqueuse intestinale du duodénum et du grêle. Ses récepteurs CCK₁ et CCK₂ sont localisés dans le

système digestif où ils médient les contractions de la vésicule biliaire et la libération des enzymes pancréatiques et gastriques suite à l'ingestion de protéines et de lipides. Dans le système nerveux central, ils participent à la genèse de la nausée et de la satiété (Szewczyk and Laudeman, 2003). Les antagonistes du CCK1 comme le dexloxiglumide facilitent la vidange gastrique, inhibent les contractions de la vésicule biliaire, accélèrent le transit colique et réduisent la sensibilité colique chez les patients avec SII et chez les sujets sains (Scarpignato and Pelosini, 1999; Cremonini et al., 2005).

Antagonistes des récepteurs aux tachykinines

Les tachykinines (substance P et neurokinines A et B - SP, NKA et NKB) sont une famille de neuro-peptides dont les effets sont médiés par les récepteurs aux tachykinines NK1, NK2 et NK3. Présentes au niveau des muscles lisses, des neurones intrinsèques excitateurs et des afférences viscérales, elles ont des effets différentiels sur la motilité gastro-intestinale, les réponses autonomes au stress, sur la sensibilité viscérale et la transmission du message nociceptif (Improta and Broccardo, 2006). Ces caractéristiques en font de bonnes cibles thérapeutiques dans le SII (Lecci and Maggi, 2003). Plusieurs antagonistes (talnétant, népadutant, maropitant, casopitant) sont en cours de développement. Chez le volontaire sain, le népadutant (antagoniste NK2) réduit significativement les altérations de la motricité intestinale induite par la NKA et diminue la douleur abdominale (Lordal et al., 2001) mais il n'existe encore aucune donnée sur le SII.

Agoniste α 2-adrénérique

La clonidine agit comme un agoniste des récepteurs α 2-adrénériques pré-synaptiques pour diminuer l'excitabilité des afférences neuronales. Cette propriété pharmacologique lui conférerait une action anti-nociceptive (Gentili et al., 2001). La clonidine ralentit le transit colique, augmente la compliance intestinale et diminue les seuils de sensibilité à la distension colique chez des volontaires sains (Bharucha et al., 1997; Malcolm and Camilleri, 2000). Ces effets concourent à réduire la fréquence des selles et la sévérité des douleurs abdominales chez des patients atteints de SII-D (Camilleri et al., 2003).

Octréotide

L'octréotide est un octapeptide qui mime l'action pharmacologique de la somatostatine, hormone inhibant la sécrétion du glucagon, de l'insuline et de l'hormone de

croissance (Burroughs and McCormick, 1991). En outre, l'octréotide, qui augmente les seuils de réponse à la distension colo-rectale chez les patients SII-D, aurait des effets antinociceptifs viscéraux (Hasler et al., 1994). Cependant, l'effet de l'octréotide semble limité à long terme (Klooker et al., 2007).

Opiacés

Les propriétés antalgiques des opiacés ont naturellement conduit à leur utilisation pour le traitement des douleurs abdominales. Les agonistes périphériques des récepteurs opioïdiques ont rapidement été préférés aux agonistes non spécifiques afin de limiter les effets indésirables et particulièrement les effets constipants de la morphine. L'effet antalgique du tramadol (agoniste des récepteurs μ , δ et κ -opioïdiques) est complété par ses effets de type anti-dépresseur tricyclique. La fédotozine (agoniste des récepteurs κ) est actuellement en cours d'évaluation clinique (Lembo, 2006).

Agoniste des canaux chlorure

La lubiprostone active les canaux chlorure de type 2, ClC-2, du pôle apical des cellules intestinales et augmente la sécrétion de chlorure et d'eau dans la lumière intestinale. Cette augmentation des sécrétions intestinales augmente le péristaltisme et permet de traiter la constipation chronique. La lubiprostone a été commercialisée aux États-Unis en 2006 mais reste en cours d'évaluation clinique en Europe.

B.III.4. Traitements alternatifs

L'effet placebo prononcé et la forte co-morbidité des troubles anxieux et dépressifs dans le SII ont encouragé le recours aux thérapies psychologiques pour son traitement. Parmi celles-ci, on trouve : (1) la relaxation, basée sur l'hypothèse que le stress stimule le système nerveux autonome (SNA) et exacerbe les symptômes ; (2) le biofeedback qui permet au patient d'apprendre à percevoir ses sensations rectales pendant la distension et ainsi à réguler ses mouvements intestinaux ; (3) l'hypnothérapie, basée sur l'hypothèse que l'hypnose peut induire un état de relaxation durable et affecter positivement la motilité intestinale ; (4) les thérapies comportementale et cognitive, basées sur l'hypothèse que le patient a appris à répondre au stress en exacerbant ses symptômes et ayant pour but d'adapter son comportement afin d'identifier les événements stressants et d'y répondre de

façon active et adaptée et (5) la psychothérapie, basée sur l'hypothèse que les symptômes du SII sont une manifestation psycho-somatique d'événements de vie traumatisants (Brandt et al., 2002). Les résultats vont dans le sens d'un effet bénéfique des différentes thérapies psychologiques. Il semble que les améliorations sont les plus nettes dans le cas de patients présentant des douleurs avec prédominance de diarrhées (Guthrie et al., 1991). Ces résultats restent ambivalents sauf pour la thérapie comportementale qui est plus efficace que le placebo pour soulager la symptomatologie d'ensemble du SII (Brandt et al., 2002).

L'ensemble des traitements disponibles du SII est récapitulé dans le Tableau XII.

Conclusion

Les médicaments ciblant un symptôme précis causé par un mécanisme physiologique connu comme les relaxants des muscles lisses pour les diarrhées ou les opiacés pour les douleurs abdominales sont efficaces mais n'ont pas plus d'effet que le placebo sur les autres symptômes. Les traitements globaux comme les régimes, les modulateurs des récepteurs 5HT (sauf l'alosétron qui améliore la symptomatologie du SII-D chez la femme (Viramontes et al., 2001) et qui est le seul sétron à avoir obtenu l'autorisation de mise sur le marché américain) et les thérapies psychologiques souffrent de nombreux biais. Le manque d'études de qualité ne permet pas d'évaluer l'apport de ces thérapies en raison de petits échantillons, de l'absence de définition précise des symptômes, de l'absence d'aveugle et/ou du défaut d'études cliniques.

Traitements thérapeutiques confirmés et potentiels du SII					
Classe pharmacologique	Agent	Cible pharmacologique	Symptôme(s) ciblé(s)	Contre-indications	Potentiel thérapeutique
Anti-spasmodiques	Bromure de cimétropium	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	validé
	Mébéverine	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	validé
	Trimébutine	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	validé
	Bromure d'otilonium	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
	Pirenzepine	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
	Bromure de pirfenium	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
	Rocivérine	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
	Dicyclomine	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, transit	SII-C	en phase clinique
	Hyosciamine	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Bromure de propanthéline	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Teinture de belladonne	Antagoniste des récepteurs muscariniques	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Bromure de pinavérium	Agent bloquant des canaux calciques de type L	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	validé
	Bromure d'otilonium	Agent bloquant des canaux calciques de type L	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	validé
	Diflazem	Agent bloquant des canaux calciques de type L	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
	Nifédipine	Agent bloquant des canaux calciques de type L	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Vérapamil	Agent bloquant des canaux calciques de type L	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Nicardipine	Agent bloquant des canaux calciques de type L	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Huile de menthe poivrée	nr	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	nr	empirique
Anti-diarrhéiques	Lopéramide	Agoniste des récepteurs μ -opioïdiques	Diarrhée, urgence fécale	SII-C, personnes âgées	validé
	Cholestyramine	Agoniste des récepteurs μ -opioïdiques	Diarrhée, urgence fécale	SII-C, personnes âgées	en phase clinique
	Codéine	Agoniste des récepteurs μ -opioïdiques	Diarrhée, urgence fécale	SII-C, personnes âgées	en phase clinique
	Diphénoxylate	Agoniste des récepteurs μ -opioïdiques	Diarrhée, urgence fécale	SII-C, personnes âgées	en phase clinique
Anti-dépresseurs tricycliques	Amtriptyline	Sérotinine, noradrénaline	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Desipramine	Sérotinine, noradrénaline	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Doxépine	Sérotinine, noradrénaline, histamine	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Fluphéazine	Dopamine?	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Imipramine	Sérotinine, noradrénaline, histamine, dopamine...	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Méprisazole	Sérotinine, noradrénaline, dopamine	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Miansérine	Noradrénaline	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Mirtazapine	Sérotinine, noradrénaline	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Nortriptyline	Noradrénaline, sérotinine	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Venlafaxine	Sérotinine, noradrénaline	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotinine	Citalopram	Sérotinine	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Fluoxétine	Sérotinine	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Paroxétine	Sérotinine	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Sertraline	Sérotinine	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
Ligands des récepteurs à la sérotinine	Allosétron	Antagoniste des récepteurs 5HT ₃	Douleur abdominale, diarrhée	SII-C	validé
	Tégasérod	Agoniste partiel des récepteurs 5HT ₄	Douleur abdominale, constipation	nr	validé
	Buspiron	Agoniste des récepteurs 5HT ₁	Douleur abdominale, anxiété	nr	en phase clinique
	Cilansétron	Antagoniste des récepteurs 5HT ₃	Douleur abdominale, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Cinacridine	Agoniste partiel des récepteurs 5HT ₄	Douleur abdominale, constipation	nr	en phase clinique
	Granisétron	Antagoniste des récepteurs 5HT ₃	Douleur abdominale, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Ondansétron	Antagoniste des récepteurs 5HT ₃	Douleur abdominale, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Prucalopride	Agoniste des récepteurs 5HT ₄	Constipation	SII-D	en phase clinique
	Sumatriptan	Agoniste des récepteurs 5HT ₁	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Tropisetron	Antagoniste des récepteurs 5HT ₃	Douleur abdominale, diarrhée	SII-C	en phase clinique
Laxatifs	Laxatifs osmotiques (sorbitol, lait de magnésium, PEG) voir Fibres alimentaires voir Agents de charge	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
Fibres alimentaires	Maïs	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
	Blé	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
	Son de blé	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
Agents de charge	Charbon de bois	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
	Cromoglycate de sodium	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
	Ipaghula	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
	Méthylcellulose	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
	Psyllium	Transit colique	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-D	empirique
Diètes d'exclusion	Exclusion	Graisses, sucres, alcool	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	empirique
	Exclusion	Fibres	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	empirique
	Exclusion	Lactose	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	empirique
	Exclusion	Fructose, sorbitol, xylitol...	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	SII-C	empirique
Pro-biotiques	<i>Bifidobacteria</i>	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	<i>Escherichia coli</i>	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	VSL#3	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
Pré-biotiques	Actilign® (Beghin meijl)	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	Prescript-Assist™ (Researched Nutritionals®)	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	Trans-galact-oligo-saccharide	Flore commensale	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
Antagonistes du récepteur à la cholécystokinine	Dexloxigilumide	Antagoniste des récepteurs CCK1	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	nr	en phase clinique
	Loxigilumide	Antagoniste des récepteurs CCK2	Douleur abdominale, ballonnements, diarrhée	nr	en phase clinique
Opacés	Asimadoline	Agoniste des récepteurs K-opioïdiques	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Fédotazine	Agoniste des récepteurs K-opioïdiques	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Tramadol	Agoniste des récepteurs K-opioïdiques	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
Agonistes α -adrénergiques	Clonidine	Agoniste des récepteurs α 2-adrénergiques	Douleur abdominale, diarrhée	SII-C	en phase clinique
	Lidamide	Agoniste des récepteurs α 2-adrénergiques	Douleur abdominale, diarrhée	nr	en phase clinique
Antagonistes β -adrénergiques	Timolol	Antagoniste des récepteurs β -adrénergique	Transit	nr	en phase clinique
	Bisoprolol	Antagoniste des récepteurs β 1-adrénergique	Transit	nr	en phase clinique
Analogue de la somatostatine	Octréotide	Glucagon, insuline, GH...	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
Antagonistes des récepteurs aux tachykinines	Casopitant	Antagoniste des récepteurs NK1	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	CJ-1 1974	Antagoniste des récepteurs NK1	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	Ezlopitant	Antagoniste des récepteurs NK1	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	Maropitant	Antagoniste des récepteurs NK1	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	MEN-11420	Antagoniste des récepteurs NK1	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	Népadutant	Antagoniste des récepteurs NK2	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
Inhibiteur de la cholinestérase	Talnéstant	Antagoniste des récepteurs NK3	Douleur abdominale, ballonnements	nr	en phase clinique
	Néostigmine	Acétylcholine	Constipation	nr	en phase clinique
Antagoniste des récepteurs à la dopamine	Dompéridone	Antagoniste des récepteurs D2 et D3	Ballonnements	nr	en phase clinique
Antagonistes du récepteur muscarinique M3	Zamfénaïne	Antagoniste du récepteur muscarinique M3	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
	Darifenacine	Antagoniste du récepteur muscarinique M3	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
Neurotrophines	NT3 recombinante	NT3	Constipation	nr	en phase clinique
Anti-épileptiques	Gabapentine	Agoniste des canaux calciques (α 2 δ)	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
	Prégabaline	Agoniste des canaux calciques (α 2 δ)	Douleur abdominale	nr	en phase clinique
Traitements psychologiques	Relaxation	Sensibilité et motricité intestinale	Douleur abdominale, transit, anxiété	nr	empirique
	Biofeedback	Sensibilité viscérale	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	en phase clinique
	Hypnothérapie	Sensibilité et motricité intestinale	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	empirique
	Thérapie cognitivo-comportementale	Sensibilité et motricité intestinale	Douleur abdominale, ballonnements, transit	nr	empirique
	Psychothérapie	Sensibilité et motricité intestinale	Douleur abdominale, transit, anxiété	nr	empirique

nr : non renseigné ; PEG : polyéthylène glycol ; 5HT : sérotinine ; GH : growth hormone ; NT3 : neurotrophine 3 ; SII-D : syndrome de l'intestin irritable à prédominance diarrhéique ; SII-C : SII à prédominance de constipation

Tableau XII. Différentes approches du traitement du SII.

C. Mini-synthèse #01

MICI VERSUS SII : VERS UNE ETIOPATHOGENESE COMMUNE?

Ce premier chapitre descriptif a permis de souligner les différences entre les MICI et le SII mais aussi l'existence de caractéristiques communes.

Signature inflammatoire des MICI

La principale différence entre MICI et SII réside dans le fait que les MICI sont des affections purement organiques alors que le SII présente une très forte composante environnementale. Les symptômes inflammatoires des MICI expliquent tout à la fois douleurs abdominales, diarrhées et troubles sensori-moteurs intestinaux tandis que leur origine reste inconnue chez les patients atteints de SII. Ainsi, cette différence se retrouve dans le panel de traitements proposés avec, d'un côté, pour les MICI, des médicaments ciblant les symptômes en amont par un mécanisme anti-inflammatoire, et de l'autre, des médicaments jouant uniquement sur le ré-équilibrage de la fonction intestinale défectueuse pour le SII.

Existe-t-il un continuum entre MICI et SII?

Cependant, les données rapportées dans cette première partie introductive suggèrent aussi que les différences entre MICI et SII ne sont pas si définitives.

En effet, ces deux entités pathologiques partagent l'existence d'une vulnérabilité génétique à l'expression des symptômes. Les gènes candidats sont impliqués dans l'inflammation aussi bien pour les MICI (NOD2/CARD15, TNF α , IL23R...) que pour le SII (IL10, TGF β). L'hypothèse d'une base immunologique dans l'étiologie des MICI mais aussi dans celle du SII est d'ailleurs confortée (1) par les données épidémiologiques qui indiquent que le risque de développer MICI et SII est augmenté à la suite d'infections virales ou bactériennes (MICI : *Escherichia coli* et *Mycobacteria paratuberculosis* notamment ; SII : virus de la gastro-entérite et *Helicobacter pylori*) et (2) par les descriptions récentes de signes micro-inflammatoires dans le SII (infiltration mucosale de lymphocytes et de mastocytes, implication des IL6 et IL8, sur-expression des CD3+, CD4+ et CD25+). Réciproquement, au-delà des caractéristiques purement inflammatoires des MICI, l'existence d'un déséquilibre de la flore commensale et l'exacerbation des

symptômes des MICI en rémission par le stress et l'anxiété indiquent que des causes environnementales sont non seulement à l'œuvre dans le SII mais aussi dans les MICI.

La Figure 7 présente les mécanismes communs aux étiologies des MICI et du SII.

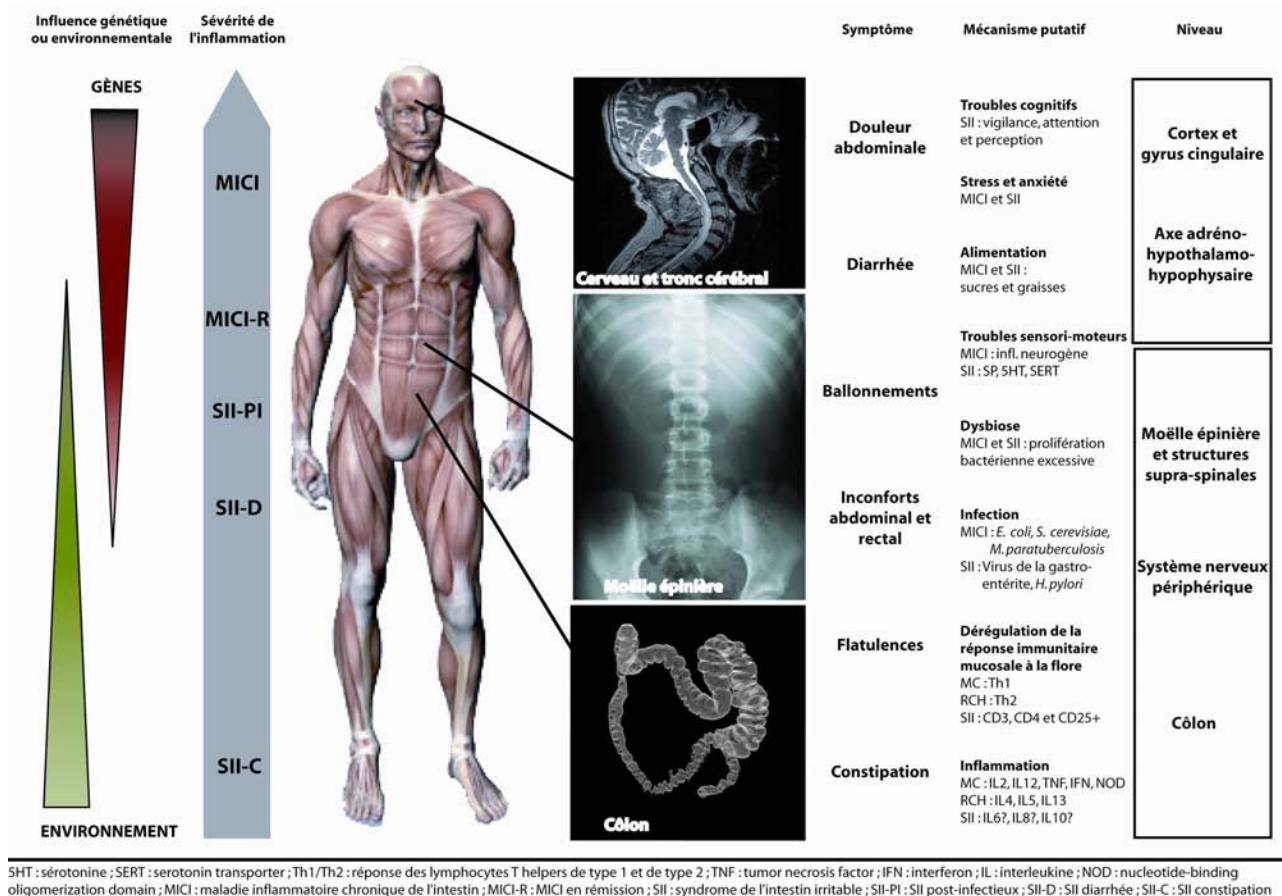


Figure 7. Rôles respectifs de l'environnement et des gènes dans la symptomatologie des MICI et du SII.

En fonction de l'implication relative de chaque organe dans la symptomatologie (côlon, système nerveux périphérique, SNA, système nerveux central), la part des gènes et l'influence de l'environnement est variable. On peut cependant noter qu'à l'interface entre gènes et environnement, MICI en rémission, SII-PI et SII-D ont une expression clinique proche. A la lumière de données cliniques montrant que l'inflammation dans les MICI peut contribuer à des dysfonctions intestinales motrices persistant au-delà de la résolution de l'inflammation et conduisant à des symptômes similaires à ceux du SII pendant les périodes de rémission, l'hypothèse de l'existence d'un continuum entre MICI et SII a été proposée (Quigley, 2005b). Ce continuum irait du SII-D (pas d'inflammation, étiologie plutôt environnementale) aux MICI (inflammation stricte régie par les gènes). Les

chaînon intermédiaires seraient constitués du SII-PI (micro-inflammation, causes environnementales précipitant la maladie en synergie avec un génotype vulnérabilisant) et des MICI en rémission. La mise en évidence des mécanismes sous-jacents est donc une voie prometteuse qui pourrait permettre (1) de prévenir le développement des MICI à partir d'un état pathologique préalable (ex. identification et prise en charge précoce d'un SII-PI) et (2) de définir de nouvelles cibles pour le traitement du SII (ex. modulation du système immunitaire).

CHAPITRE 2. MECANISMES DE L'HYPER-SENSIBILITE VISCERALE

Le deuxième chapitre de ce mémoire s'attache à l'étude des mécanismes inflammatoires et modulateurs des fonctions sensori-motrices intestinales pouvant expliquer la symptomatologie des MICI et du SII. L'objectif est de mettre en évidence des mécanismes permettant de jeter les bases d'une physio-pathologie commune aux MICI et au SII et ainsi de définir un éventuel continuum étiopathogénique de ces maladies. Pour cela, nous allons évoluer de la périphérie (côlon, système nerveux entérique et ganglions spinaux) où ont lieu les phénomènes inflammatoires et les interactions neuro-immunitaires vers les structures nerveuses complexes (MEp, tronc cérébral et cerveau) où s'opèrent l'intégration et la modulation des informations sensorielles (Figure 8).

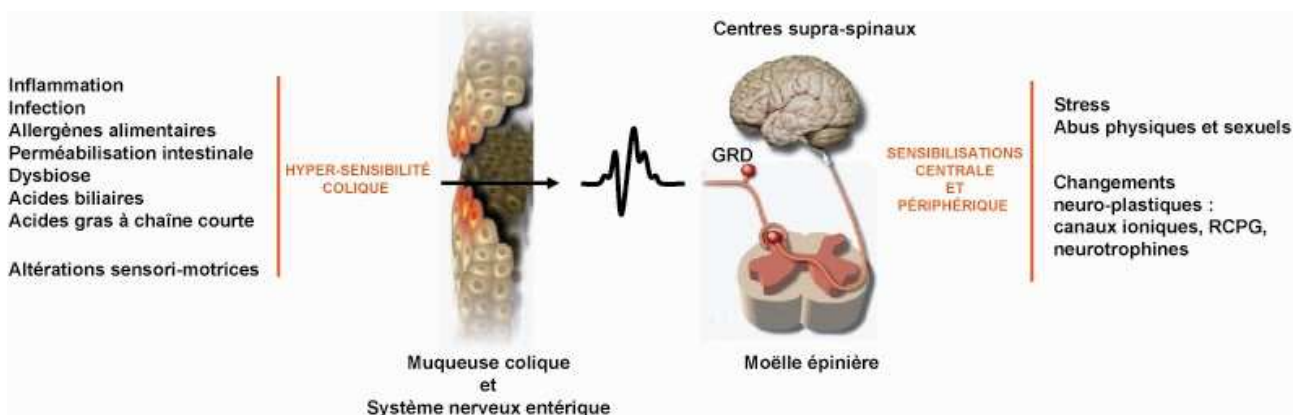
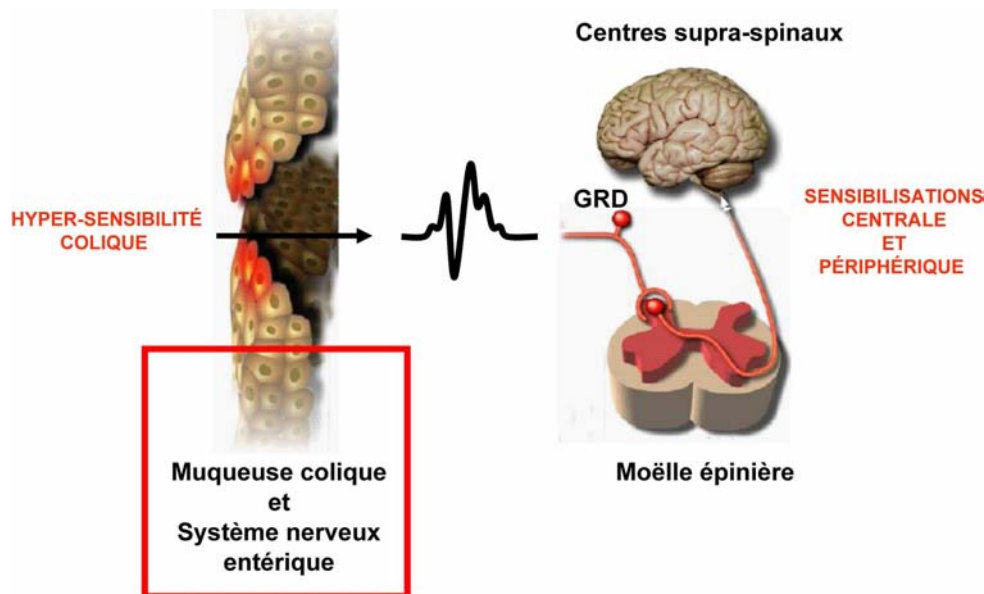


Figure 8. Niveaux anatomiques où s'opèrent les mécanismes de l'HSV. Les mécanismes inflammatoires (infections, allergies) et les atteintes intestinales (perméabilisation de l'épithélium par les bactéries commensales ou les produits de la digestion) se déroulent au niveau de la muqueuse colique où ils provoquent des troubles sensori-moteurs en altérant le fonctionnement du système nerveux entérique. Les phénomènes de sensibilisations périphérique et centrale (neuro-plasticité, potentialisation à long terme) s'opèrent dans les GRD et la MEp tandis que les effets du stress et la modulation de la nociception prennent naissance dans les centres supra-spinaux (cerveau et tronc cérébral). AGCC, acides gras à chaîne courte ; GRD, ganglions rachidiens dorsaux ; RCPG, récepteurs couplés aux protéines G.

A. Côlon



Le côlon est le lieu de l'HSV dans les MICI et le SII. Alimentation, dysbiose ou infections peuvent "irriter" la muqueuse colique et sont autant d'agents conduisant potentiellement à l'inflammation. Il en résulte un dysfonctionnement du système nerveux entérique propice au développement de troubles sensori-moteurs intestinaux. Réciproquement, l'altération des messages efférents du système nerveux central (SNC) ou la sensibilisation croisée entre le côlon et un autre organe viscéral peut conduire à la sensibilisation des terminaisons nerveuses dans le côlon.

A.I. Perte d'homéostasie de la flore commensale

Chez les patients avec une MICI, les nombreuses mutations retrouvées soit dans des gènes codant pour des récepteurs impliqués dans la reconnaissance immunitaire de produits bactériens soit dans des gènes codant pour des protéines impliquées dans la modulation de la réponse des lymphocytes T par les cellules dendritiques sont des arguments en faveur d'une origine bactérienne au développement de l'inflammation colique. Cette hypothèse est confortée par le déséquilibre des populations bactériennes intestinales décrit chez les patients, d'ailleurs également rapporté dans le SII. Trois mécanismes peuvent conduire à une rupture de tolérance à la flore commensale : (1) une

dysbiose favorisant l'expansion de bactéries pathogènes, (2) une translocation bactérienne excessive et (3) une perméabilisation de la barrière épithéliale conduisant à l'activation de la réponse immunitaire muqueuse.

A.I.1. Dysbiose

A.I.1.a. Flore commensale

La flore commensale est composée de plusieurs centaines de milliards de micro-organismes répartis tout le long du tractus digestif (Berg, 1996). La flore colique est très diversifiée. Elle est composée de plus de 400 espèces bactériennes dont la plupart sont anaérobies et appartiennent aux grands groupes des *Bactéroïdes* (genres *Cytophagia*, *Flavobacterium* et *Bacteroides*) et des *Firmicutes* (genre *Clostridium* et *Eubacterium*). La population bactérienne aérobie est composée essentiellement d'entéro-bactéries et de lactobacilles. Les bactéries commensales sont nécessaires au bon fonctionnement du système digestif (Guarner and Malagelada, 2003). Elles modulent l'expression de gènes impliqués dans l'absorption des nutriments, renforcent la barrière muqueuse et participent au métabolisme xénobiotique, à l'angiogenèse et à la maturation intestinale post-natale. Cette relation symbiotique est établie durant les 3 premières années de vie après la colonisation du tube digestif stérile du bébé et s'accompagne d'une maturation du système immunitaire muqueux (tolérance à la flore commensale).

A.I.1.b. Déséquilibre de la flore commensale

Un changement qualitatif dans la composition de la flore intestinale (dysbiose) pourrait provoquer un déséquilibre de la balance microbienne et activer la réponse immunitaire muqueuse dans les MICI et/ou dans le SII. Ainsi, chez les patients en rémission de MC, l'instillation d'une flore fécale autologue dans une région intestinale ne présentant pas une flore de même composition (ex. du côlon vers l'iléon) provoque une réaction inflammatoire de la muqueuse et l'apparition de lésions aiguës caractéristiques d'une rechute (D'Haens et al., 1998). De la même manière, toute action sur la flore a des effets symptomatiques : les pro- et pré-biotiques ont des effets bénéfiques (O'Sullivan and O'Morain, 2000; O'Mahony et al., 2005) tandis que les antibiotiques peuvent avoir des

effets opposés sur les troubles digestifs selon qu'ils sont absorbables ou non par la muqueuse (Di Stefano et al., 2000; Maxwell et al., 2002).

De façon intéressante, le même profil bactérien anormal est observé dans les MICI (Swidsinski et al., 2002; Sokol et al., 2006; Macfarlane et al., 2009) et dans le SII (Balsari et al., 1982; Nobaek et al., 2000) : diminution des *Lactobacilli* et *Bifidobacteria* mais augmentation des anaérobies, *Escherichia coli* et *Bacteroides* (voir Chapitre 1).

Les modèles animaux ont confirmé la nécessité de la présence de la flore colique pour le développement de l'inflammation intestinale. En effet, le développement d'une colite spontanée chez des rats HLA-B27 axéniques ou d'une colite induite par le DSS chez la souris requiert la présence de la flore luminale (principalement des *Bacteroides*). L'apparition de telles colites est inhibée par un pré-traitement antibiotique mais est ré-amorçée rapidement après la colonisation par des bactéries commensales aérobies et/ou anaérobies (Hata et al., 2001; Rath et al., 2001; Elson et al., 2005).

Ces observations montrent qu'un déséquilibre de la flore colique ou tout simplement sa composition peut avoir une action sur la physiologie intestinale.

A.I.1.c. Effets physiologiques

La dysbiose conduit à une modification des proportions relatives de chaque espèce bactérienne. Le déséquilibre entre les différentes populations engendre une diminution de la bio-diversité bactérienne et une sur-production de produits bactériens néfastes. Les toxines sont capables de causer des douleurs abdominales (Pimentel et al., 2000) et les gaz résultant de l'augmentation de la fermentation des aliments peuvent contribuer au dysfonctionnement sensori-moteur de l'intestin (King et al., 1998). Si ce déséquilibre est en faveur d'espèces potentiellement pathogènes (comme dans le cas des MICI et du SII avec la sur-représentation des *Bacteroides* et *Escherichia coli*), la muqueuse intestinale peut être colonisée par les bactéries adhérentes. Plusieurs études ont ainsi souligné la présence d'antigènes bactériens (Macpherson et al., 1996) et l'augmentation du nombre de bactéries adhérentes ou intra-cellulaires dans l'épithélium colique de patients présentant une MICI (Chadwick et al., 2002; Swidsinski et al., 2002; Darfeuille-Michaud et al., 2004). La présence de bactéries pathogènes (et en particulier *E. coli*) peut provoquer une irritation de la muqueuse et une perméabilisation de la barrière épithéliale (Rocha et al., 2001).

A.1.2. Bactériophages

La dysbiose peut s'expliquer par l'intervention des bactériophages. Présents en grand nombre dans tout écosystème bactérien, les bactériophages exercent une forte influence sur la diversité et la composition de la population bactérienne (Riley, 2004). Ils peuvent être impliqués indirectement en favorisant le transfert de gène et la ré-organisation du génome au sein de la population bactérienne ou directement en tant qu'agent immuno-modulateur (Gorski et al., 2006).

Une étude récente a comparé la communauté phagique totale associée à la muqueuse intestinale entre des sujets sains et des patients atteints de MC. Les résultats montrent que les patients atteints de MC présentent plus de VLP (virus-like particules) dans les zones saines mais moins de VLP dans les zones ulcérées (Lepage et al., 2008). Ces données indiquent que, dans les zones non ulcérées, les phages sont produits en plus grande quantité ou qu'ils y survivent plus longtemps. Les bactériophages pourraient donc concourir au déséquilibre des populations bactériennes sur le lieu de l'atteinte inflammatoire : l'épithélium muqueux.

A.1.3. Perméabilisation de la barrière épithéliale

La barrière intestinale protège l'organisme des menaces bactériennes potentielles. Elle est constituée d'un biofilm bactérien, d'une couche de mucus et de l'épithélium intestinal au sein duquel se trouvent les défenses immunitaires innées (cellules dendritiques, cellules de Paneth, macrophages et neutrophiles) (Korzenik and Podolsky, 2006). La Figure 9 présente les principaux mécanismes de défense au niveau de la muqueuse intestinale.

Dans les MICI, la résistance de la barrière épithéliale est diminuée et sa perméabilité est augmentée même en l'absence d'inflammation chez les individus à risque (Soderholm et al., 2002), notamment ceux présentant une mutation dans le gène NOD2/CARD15 (Buhner et al., 2006). Parmi les altérations rapportées, on signale un défaut de sécrétion de mucus (Moehle et al., 2006), un dérangement des jonctions cellulaires (Hill et al., 2004) et une altération de la production des défensines chez les patients avec MICI (Ramasundara et al., 2009).

La dégradation de la barrière épithéliale permet l'initiation de mécanismes

pathogéniques en facilitant l'invasion bactérienne dans la muqueuse et en rendant possible une interaction excessive entre la microflore et le système immunitaire muqueux.

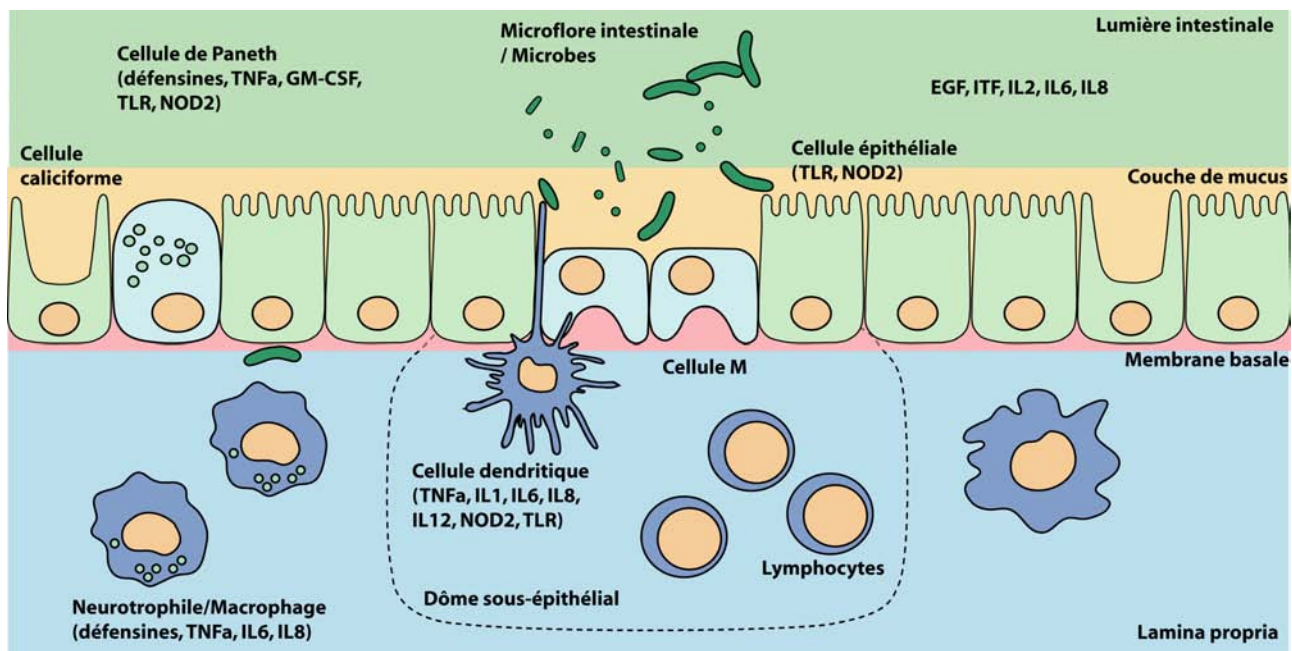


Figure 9. Mécanismes de défense de la barrière épithéliale intestinale. D'après Cho 2008, Korzenick & Podolsky 2006. L'invasion de la muqueuse est prévenue par des défenses physiques (couche de mucus sécrétée par les cellules caliciformes, barrière cellulaire formée par les cellules épithéliales) et par les cellules immunitaires de l'épithélium (cellules de Paneth et cellules M) et du système immunitaire muqueux (cellules mono-nucléaires, lymphocytes et cellules dendritiques du dôme sous-épithélial). La reconnaissance des éléments bactériens pathogènes se fait par les récepteurs TLR et NOD. La réaction inflammatoire est médiée par les cytokines et les facteurs de croissance. TNFα, tumor necrosis factor α ; NOD2 nucleotide oligomerization domain 2 ; TLR toll-like receptor ; GM-CSF granulocyte-macrophage colony stimulating factor ; EGF epithelial growth factor ; ITF, intestinal trefoil factor ; IL interleukine.

A.I.4. Translocation bactérienne excessive

La translocation bactérienne est définie comme le passage de bactéries endogènes viables de la lumière du tractus gastro-intestinal vers les nodules mésentériques et les autres organes internes. Certaines bactéries présentes dans la lumière intestinale, telles que *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium perfringens*, *Proteus spp.* et *Bacteroides fragilis* peuvent envahir la muqueuse des patients atteints de MICI et franchir la barrière épithéliale pour atteindre ensuite les ganglions mésentériques (McGuckin et al., 2009). La translocation bactérienne participe à la perméabilisation intestinale et induit des complications septiques et extra-intestinales.

A.I.5. Perte de tolérance à la flore commensale

Dans les MICI, l'affaiblissement des défenses de la barrière intestinale, conjugué à une forte pression exercée par des bactéries adhérentes sur-représentées au sein de la microflore colique, peut conduire à une perméabilisation de la barrière épithéliale (McGuckin et al., 2009). L'augmentation du nombre de contacts entre la microflore commensale (et en particulier les bactéries pathogènes) et le système immunitaire muqueux peut provoquer une rupture de la tolérance immunitaire à la flore commensale (Farrell and LaMont, 2002). Cette perte de tolérance met en jeu l'activation des cellules de l'immunité innée, les lymphocytes T et les cellules dendritiques qui sont sur-activées au niveau des sites inflammatoires dans les MICI (Hart et al., 2005) ce qui conduit à une sur-production d'IL4, IL6, IL12 et de TNF α et à l'activation des lymphocytes T effecteurs, amorçant ainsi une inflammation locale persistante (Niess, 2008).

A.II. Dérégulation de la réponse immunitaire intestinale

A.II.1. Système immunitaire intestinal

Le tissu lymphoïde associé à l'intestin (ou GALT gut-associated lymphoid tissue) permet de discriminer les allergènes bénéfiques et pathogènes et de surveiller les innombrables micro-organismes au contact de la muqueuse intestinale. Le GALT est organisé en sites effecteurs diffus (lymphocytes disséminés le long de l'épithélium et de la lamina propria de la muqueuse) et en organes lymphoïdes responsables de la phase d'induction de la réponse immunitaire (plaques de Peyer, nodules mésentériques et follicules lymphoïdes isolés) (Figure 10A) (Mowat, 2003).

Au sein des plaques de Peyer, les cellules M (microfold cells), qui sont des entérocytes spécialisés sans micro-villosités, peuvent fixer des pathogènes invasifs comme les bactéries des genres *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia* ou les réovirus pour les présenter aux cellules dendritiques. Les ganglions lymphatiques mésentériques sont de grande taille et sont composés de follicules de cellules B et de zones T.

La réponse immunitaire intestinale se déroule en quatre grandes étapes : capture des antigènes, activation des cellules présentatrices d'antigènes (CPA), activation puis migration et action des effecteurs (Figure 10B). Schématiquement, la reconnaissance des

antigènes se fait via des récepteurs spécialisés, les récepteurs de reconnaissance de motifs microbiens (pattern-recognition receptors PRR) qui assurent la détection des motifs moléculaires associés aux microbes (microbe-associated molecular patterns MAMP) (Didierlaurent et al., 2005). Les cellules dendritiques activées par l'intermédiaire des PRR font office de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) aux lymphocytes T auxiliaires CD4⁺ naïfs grâce aux molécules du CMH de classe II. Le jeu de cytokines sécrétées détermine l'équilibre entre les sous-populations de lymphocytes effecteurs et régulateurs tout en assurant l'activation des cellules mono-nucléaires. Dans les plaques de Peyer, sous l'influence des contacts cellulaires, du TGFβ et de l'IL10, les cellules B se différencient en plasmocytes sécrétant des IgA (Mowat, 2003).

La mise en œuvre séquentielle de la réponse immunitaire indique que plusieurs étapes sont cruciales pour une réaction adaptée et contrôlée du GALT à l'invasion par des agents pathogènes. Un défaut de la reconnaissance de l'antigène, un dysfonctionnement de la présentation antigénique aux lymphocytes, des perturbations de la maturation ou de la différenciation des sous-populations effectrices sont autant de causes pouvant conduire à un défaut d'activation ou de régulation de la réponse immunitaire et pouvant ainsi participer à la pathogenèse des MICI.

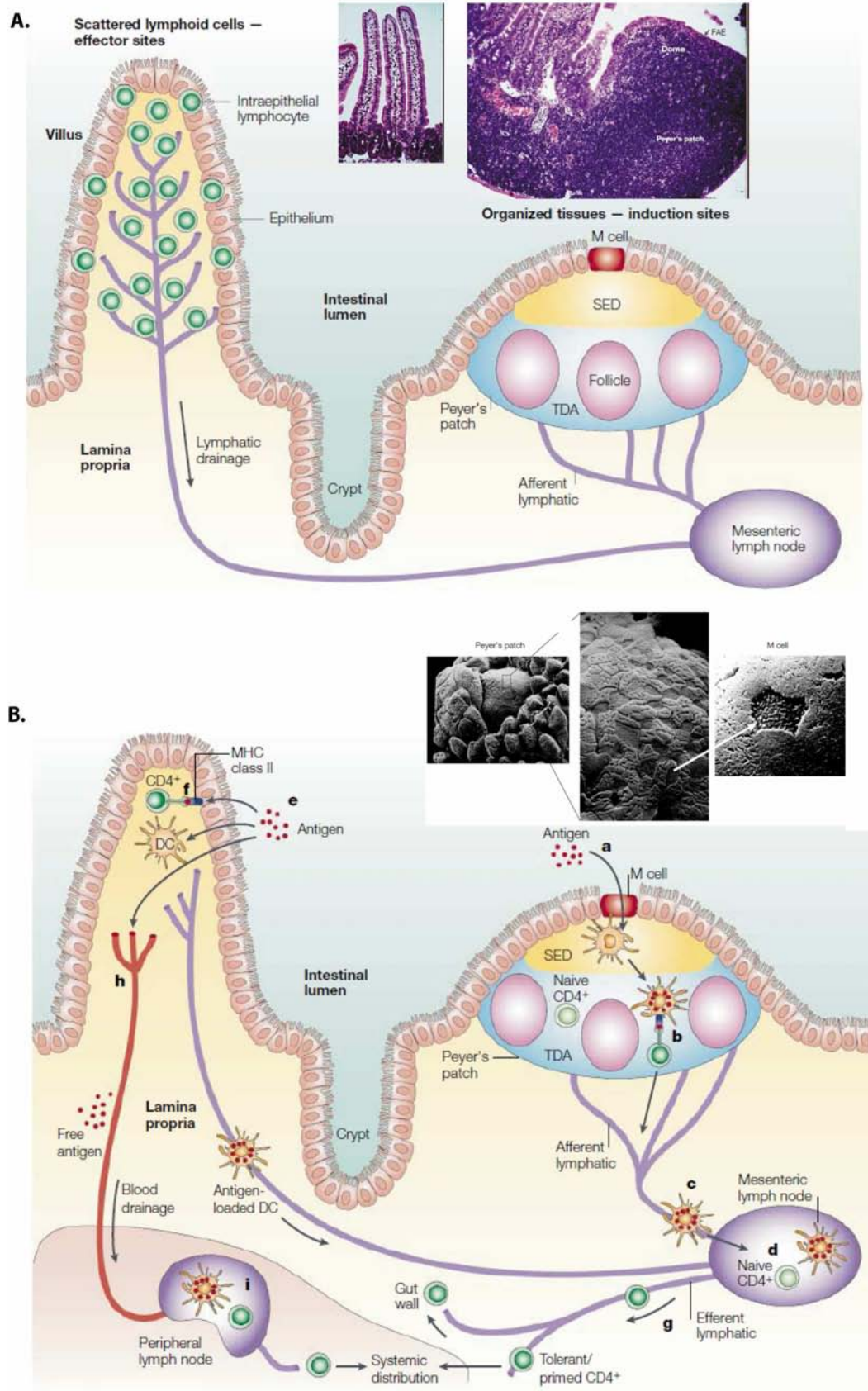


Figure 10. Réponse immunitaire du tissu lymphoïde associé à l'intestin. Adapté de Mowat 2003. (A) Sites effecteurs de la réponse immunitaire : tissu lymphoïde diffus dans la lamina propria et organes lymphoïdes. (B) Activation du GALT (voir les explications au paragraphe A.II.1.b). SED, dôme sous-épithélial ; DC, cellule dendritique ; CD4+, lymphocyte T4 ; TDA, aire dépendante du thymus.

A.II.2. Dysfonction de l'immunité innée

A.II.2.a. Infections

La fréquence des infections respiratoires, intestinales ou péri-natales est augmentée chez les malades de MICI (Ekblom et al., 1990; Garcia Rodriguez et al., 2006; Issa et al., 2008). Bien qu'aucune étude n'ait permis de définir sans ambiguïté le rôle de ces agents infectieux dans les MICI, en revanche, l'implication de *Mycobacterium spp.* (Feller et al., 2007) et d'*Escherichia coli* (Kaper et al., 2004) est fortement associée aux MICI. Le caractère pathogène de *Mycobacterium spp.* et d'*Escherichia coli* vient de leur capacité à acquérir des propriétés de virulence envers l'hôte.

L'association d'*E. coli* à la MC est l'une des données les plus solides de l'étiologie des MICI. Par rapport aux patients contrôles, *E. coli* est plus fréquemment retrouvée dans les granulomes, dans la lamina propria (Boudeau et al., 1999; Darfeuille-Michaud et al., 2004) et dans les ganglions lymphatiques mésentériques (Laffineur et al., 1992) prélevés chez les patients atteints de MC. La pathogénicité potentielle des *E. coli* réside dans l'expression de ces facteurs de virulence qui intensifient leurs capacités d'adhésion et d'invasion des cellules eucaryotes et leurs capacités de survie et de prolifération dans les macrophages (Glasser et al., 2001).

L'infection des muqueuses par les bactéries pathogènes active les défenses de la barrière épithéliale (cellules épithéliales, cellules de Paneth et cellules dendritiques). Dans les MICI, l'altération et/ou l'absence de régulation de ces cellules de l'immunité innée conduit au développement de l'état inflammatoire chronique et aboutit à la destruction des tissus, à la déstabilisation de l'épithélium et à la dissémination des bactéries dans les tissus adjacents.

A.II.2.b. Réponses de la barrière épithéliale

Cellules de l'épithélium

Les premières défenses de la barrière épithéliale sont affaiblies dans les MICI. Les cellules épithéliales intestinales constituent le premier rempart contre l'invasion d'organismes pathogènes. En communication constante avec la microflore luminale, elles sont capables d'identifier des composants bactériens pathogènes grâce aux récepteurs

extra-cellulaires Toll-like (Toll-like receptor TLR) et intra-cellulaires NOD (Nucleotide-binding Oligomerization Domain NOD1 et NOD2). Cette activation conduit à la production des β -défensines (peptides anti-microbiens) et des cytokines pro-inflammatoires TNF α , IL8, IL12 et IFN γ (Funderburg et al., 2007). Il existe des mutations des gènes HBD (human beta defensine) et des anomalies de la production des β -défensines par les cellules épithéliales dans les MICI (Fellermann et al., 2006) et dans le SII (Langhorst et al., 2009). Cette sur-production est le signe d'une activation de l'immunité innée mais pourrait aussi traduire un défaut d'activation par ces peptides (Langhorst et al., 2009).

Les cellules de Paneth, situées dans les cryptes intestinales, sécrètent également des α -défensines qui contribuent à la régulation de la densité microbienne et à la protection des cellules souches intestinales. Dans les MICI, une forte diminution de la production des α -défensines par les cellules de Paneth est rapportée (Wehkamp et al., 2007). Cette diminution entraîne une réduction de la capacité de destruction bactérienne dans les cellules iléales des patients atteints de MC (Wehkamp et al., 2005).

Cellules dendritiques

Au niveau de la muqueuse, les cellules dendritiques (CD) sont les cellules clé du contrôle de l'immunité contre les pathogènes et de la tolérance envers les organismes commensaux. Les CD expriment toute la gamme des récepteurs PRR (pattern recognition receptor) TLR et NOD ce qui leur permet de distinguer les pathogènes des organismes commensaux et d'activer ou de maintenir quiescentes les cellules T effectrices (Fleeton et al., 2004). Dans les MICI, un dysfonctionnement des réponses aux PRR conduirait les CD à reconnaître de façon inappropriée les bactéries commensales et à induire des réponses pro-inflammatoires Th1 et Th17 normalement dévolues aux organismes pathogènes (Niess, 2008). L'absence de tolérance périphérique engendrée perpétue alors l'inflammation.

Si les cellules dendritiques sont les acteurs cellulaires du contrôle d'identité pathogène à la frontière intestinale, les récepteurs PRR (pattern recognition receptors) TLR et NOD sont les acteurs moléculaires garants de la reconnaissance des constituants bactériens.

Récepteurs TLR et NOD

Les TLR forment une famille de récepteurs membranaires (Kanzler et al., 2007) exprimés à la surface des cellules épithéliales, des cellules dendritiques, des

macrophages et des monocytes (Michelsen and Arditi, 2007). Les TLR détectent les bactéries extra-cellulaires et initient les réponses de l'immunité innée en activant les voies de signalisation de gènes codant des protéines pro-inflammatoires (Iwasaki and Medzhitov, 2004). Chaque TLR est capable de reconnaître un ou plusieurs motifs moléculaires bactériens, viraux ou fongiques (Kawai and Akira, 2006). Dans les MICI, les altérations des mécanismes épithéliaux de l'immunité innée auraient pour cause une modification des patrons d'expression des TLR. Par exemple, le TLR3 est sous-régulé dans la MC alors que le TLR4 et son co-récepteur CD14 sont fortement surexprimés dans la MC et la RCH (Cario and Podolsky, 2000).

NOD2 est un récepteur cytoplasmique impliqué dans l'immunité innée et le contrôle de la multiplication de bactéries intracellulaires dans des cellules épithéliales intestinales humaines. La protéine NOD2 est exprimée dans les cellules dendritiques, les monocytes et les macrophages (Kawai and Akira, 2009), dans les cellules de Paneth (Lala et al., 2003) et dans les cellules épithéliales intestinales humaines (Hisamatsu et al., 2003). La présence de mutations dans le gène NOD2 avec une fréquence de 10 à 15% exclusivement chez les patients atteints de MC supporte le rôle de NOD2 dans l'étiopathogénèse de la MC. Cette hypothèse est également étayée par la propriété de NOD de se lier à la sérine-thréonine kinase RICK/RIP2/CARDIAK pour activer le NFkB (Bertin et al., 1999; Inohara et al., 1999; Ogura et al., 2001). Les trois variants majeurs de NOD2 (G908R, R702W et L1007fsinsC) conduisent à un défaut d'activation de NFkB suite à la stimulation par les composants bactériens qui a pour conséquence un défaut d'élimination des microbes intra-cellulaires (Singh et al., 2006) et conduirait, par compensation, à l'augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires via la voie de signalisation des TLR (Watanabe et al., 2004).

Autophagie

L'autophagie est un processus cellulaire autonome qui permet la dégradation de constituants cytoplasmiques par le lysosome (Schmid and Munz, 2007). Dans les CPA mais aussi dans les cellules épithéliales, l'autophagie participe aux réponses immunitaires innée et adaptative de l'hôte vis-à-vis des pathogènes en permettant la dégradation de bactéries intra-cellulaires et la présentation des antigènes cytosoliques aux lymphocytes T CD4+ (Nedjic et al., 2008). L'autophagie contrôle aussi l'ontogénèse des lymphocytes T et la tolérance centrale par la régulation des voies de signalisation de l'apoptose et de la survie cellulaire (Klionsky, 2007; Levine and Deretic, 2007).

L'association de polymorphismes dans les gènes d'autophagie ATG16L1 (ATG autophagy related 16-like1) et IRGM (Immunity-Related GTPase protein type M) à la MC (Prescott et al., 2007) corrobore l'hypothèse d'altérations de la reconnaissance et du traitement intra-cellulaire de composants bactériens dans l'immuno-pathogenèse de la maladie (Pua and He, 2007; Cadwell et al., 2008).

A.II.3. Dysfonction de l'immunité adaptative

Déséquilibre Th1/Th2

Dans les MICI, les anomalies de la réponse immunitaire innée perturbent la reconnaissance et la présentation antigéniques aux cellules effectrices (Figure 10). Ainsi, la barrière intestinale est plus sensible aux infections et l'activation du système immunitaire muqueux est dérégulée. Quand la MICI est active, il y a un déséquilibre entre le nombre de lymphocytes T effecteurs (Th) et de lymphocytes T régulateurs (Trég) (Martin et al., 2004). Pour la MC, ce sont les lymphocytes Th1, caractérisés par une production élevée d'IL2 et d'IFN γ , qui prédominent (Bamias et al., 2003). A l'inverse, la muqueuse des patients atteints de RCH est infiltrée majoritairement par des lymphocytes Th2 atypiques qui sont des lymphocytes caractérisés par la production d'IL5, d'IL13 et de TGF β (Targan and Karp, 2005).

Déséquilibre Th17/Trég et voie IL23

Les recherches récentes ont mis à jour une nouvelle population de cellules T appelée Th17 qui contribuerait à la prédominance des populations effectrices sur les populations régulatrices dans les MICI (Fujino et al., 2003). Le Th17 (CD4⁺ CD25⁻) est un lymphocyte T produisant la cytokine pro-inflammatoire IL17. La différenciation de la population Th17 à partir des T naïfs est induite par la co-expression d'IL23 et de TGF β dont le rôle dans la détermination de l'équilibre entre lymphocytes Trég (anti-inflammatoires) et Th17 (pro-inflammatoires) est primordial (Mangan et al., 2006). Les associations génétiques impliquant le gène du récepteur IL23R dans les MICI (Fisher et al., 2008) ont donc conduit naturellement à suspecter cette sous-population effectrice qui a une forte activité inflammatoire et promeut l'activation et l'accumulation locale des neutrophiles sur le site de l'inflammation tissulaire (Ivanov and Linden, 2009). L'hypothèse avancée est celle d'une contribution de la voie de signalisation de l'IL23R à l'inflammation

en favorisant l'état pro-inflammatoire Th17. L'IL23 favorise en effet le développement et l'expansion de cellules T mémoire pathogènes et en particulier les Th17 dont elle assure la survie et l'expansion clonale (Bettelli et al., 2006).

Dérégulation de la production de chimiokines

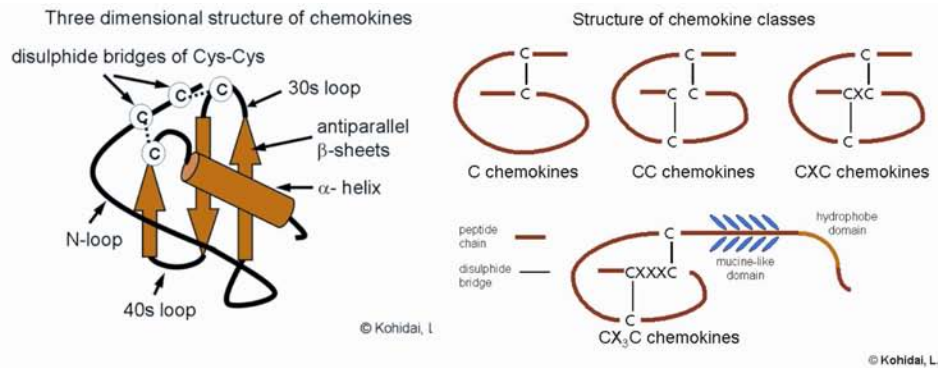
Outre le rôle de cytokines telles que l'IL23, la modification du patron d'expression des chimiokines (ou cytokines chimio-attractives) peut également provoquer l'afflux anormal de cellules immunitaires effectrices au niveau de la muqueuse intestinale. L'expression de très nombreuses chimiokines et de leurs récepteurs est augmentée pendant la phase active des MICI (Kranefeld et al., 2008) (Tableau XIII). Dans les MICI, un défaut de la production des chimiokines ou un défaut de la régulation des voies de transduction de leurs récepteurs pourrait contribuer à la perte d'intégrité épithéliale en induisant la production locale de radicaux libres (Keshavarzian et al., 2003; Kirkegaard et al., 2004) et l'afflux des leucocytes dans la muqueuse grâce à une forte angiogenèse (Koutroubakis et al., 2006). Dans le SII, le rôle des chimiokines reste très peu étudié. Seules de rares études rapportent des niveaux élevés de CXCL8 chez des patients avec un SII-PI (Katsuta et al., 2000; Macsharry et al., 2008).

Dérégulation de la production d'Ig

Enfin, la RCH et la MC sont associées à une réponse humorale caractérisée par une infiltration de cellules B plasmiques. Dans la muqueuse, les taux d'immunoglobulines G1 (IgG1), IgG2, IgM et IgE sont augmentés tandis que la concentration d'IgA sécrétoires est diminuée (Bossuyt, 2006). De plus, la sur-activation des cellules B dans les colites de type MICI entraîne une forte production d'auto-anticorps muqueux de type IgG dirigés contre les antigènes bactériens commensaux de la lumière intestinale (Holstein et al., 2006). Ces observations suggèrent un shift des anticorps de sous-type protecteur (IgA) vers des anticorps de sous-type agressif (IgG) entretenant l'inflammation de la muqueuse.

Dans le SII, peu d'études rapportent des modifications dans le profil d'expression des Ig. Une étude a décrit une augmentation des taux d'IgG et d'IgE mais sans distinguer le phénotype clinique de SII (SII-PI ou SII induit par le stress ou les allergies alimentaires) (Fahmy et al., 1991). Bien que quelques cas de patients avec une allergie alimentaire non-médiée par les IgE aient été décrits, il semble plus que probable que ces taux anormaux d'IgE et d'IgG soient spécifiques d'allergies alimentaires car les régimes de restriction

appropriés réduisent les symptômes (Kalliomaki, 2005).



Nom	Gène	Homonymes	Récepteur	Uniprot	Implication dans les MICI	Cellules cibles
CC chemokines						
CCL1	Scya1	I309, TCA3	CCR8			
CCL2	Scya2	MCP1	CCR2	P13500	Oui	Th/mono/baso
CCL3	Scya3	MIP1a	CCR1	P10147	Oui	Tc
CCL4	Scya4	MIP1b	CCR1, CCR5	P13236	Oui	Th
CCL5	Scya5	RANTES	CCR5	P13501	Oui	Th/mono/baso
CCL6	Scya6	C10, MRP2	CCR1	P22784		
CCL7	Scya7	MARC, MCP3	CCR2	P80098	Oui	Mono/baso
CCL8	Scya8	MCP2	CCR1, CCR2B, CCR5	P80075	Oui	Neutro/baso/mono
CCL9/CCL10	Scya9	MRP2, CCF18, MIP1	CCR1	P51670		
CCL11	Scya11	Eotaxin	CCR2, CCR3, CCR5	P51671		
CCL12	Scya12	MCP5		Q62401		
CCL13	Scya13	MCP4, NCC1, Ckb10	CCR2, CCR3, CCR5	Q99616		
CCL14	Scya14	HCC1, MCIF, Ckb1, NCC2, CCL	CCR1	Q16627		
CCL15	Scya15	Leukotactin1, MIP5, HCC2, NCC3	CCR1, CCR3	Q16663		
CCL16	Scya16	LEG, NCC4, LMC, Ckb12	CCR1, CCR2, CCR5, CCR8	Q15467		
CCL17	Scya17	TARC, dendrokinine, ABCD2	CCR4	Q92583		
CCL18	Scya18	PARC, DC-CK1, AMAC1, Ckb7, MIP4		P55774		
CCL19	Scya19	ELC, Exodus3, Ckb11	CCR7	Q99731		
CCL20	Scya20	LARC, Exodus1, Ckb4	CCR6	P78556		
CCL21	Scya21	SLC, 6Ckine, Exodus2, Ckb9, TCA4	CCR7	O00585		
CCL22	Scya22	MDC, DC/b-CK	CCR4	O00626		
CCL23	Scya23	MPIF1, Ckb8, MIP3	CCR1	P55773		
CCL24	Scya24	Eotaxin2, MPIF2, Ckb6	CCR3	O00175		
CCL25	Scya25	TECK, Ckb15	CCR9	O15444	Oui	Th17
CCL26	Scya26	Eotaxin3, MIP4a, IMAC, TSC1	CCR3	Q9Y258		
CCL27	Scya27	CTACK, ILC, Eskine, PESKY, Skinkine	CCR10	Q9Y4X3		
CCL28	Scya28	MEC	CCR3, CCR10	Q9NRJ3		
CXC chemokines						
CXCL1	Scyb1	Gro-a, GRO1, NAP3, KC	CXCR2	P09341	Oui	Neutro/baso
CKCL2	Scyb2	Gro-b, GRO2, MIP2a	CXCR2	P19875	Oui	Neutro/baso
CKCL3	Scyb3	Gro-?, GRO3, MIP2b	CXCR2	P19876		
CKCL4	Scyb4	PF4	CXCR3B	P02776		
CKCL5	Scyb5	ENA78	CXCR2	P42830	Oui	Neutro
CKCL6	Scyb6	GCP2	CXCR1, CXCR2	P80162	Oui	Neutro/baso
CKCL7	Scyb7	NAP2, CTAPIII, b-Ta, PEP	CXCR1, CXCR2	P02775		
CKCL8	Scyb8	IL8, NAP1, MDNCF, GCP1	CXCR1, CXCR2	P10145	Oui	Neutro/baso
CKCL9	Scyb9	MIG, CRG10	CXCR3	Q07325		
CKCL10	Scyb10	IP10, CRG2	CXCR3	P02778	Oui	T/mono
CKCL11	Scyb11	I-TAC, b-R1, IP9	CXCR3	O14625		
CKCL12	Scyb12	SDF1, PBSF	CXCR4	P48061	Oui	T/B
CKCL13	Scyb13	BCA1, BLC	CXCR5	O43927		
CKCL14	Scyb14	BRAK, bolekinine		O95715		
CKCL15	Scyb15	Lungkine, VECHE		Q9WVL7		
CKCL16	Scyb16	SRPSOX		Q9H2A7		
CKCL17	VCC1	DMC, VCC1		Q6UXB2		
C chemokines						
XLCL1	Scyc1	Lymphotoxin a, SCM1a, ATAC	XCR1	P47992		
XLCL2	Scyc2	Lymphotoxin b, SCM1b	XCR1	Q9UBD3		
CX3C chemokine						
CX3CL1	Scyd1	Fractalkine, neurotactin, ABCD3	CX3CR1	P78423	Oui	mono/CD

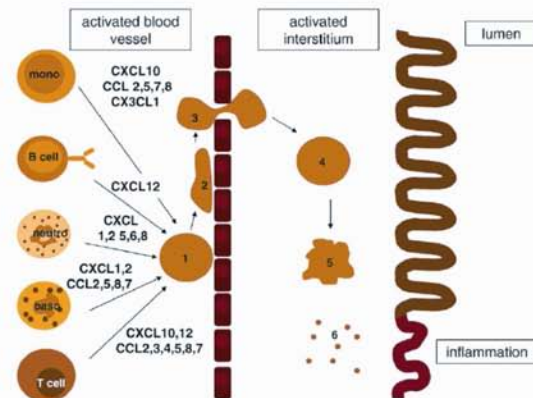


Tableau XIII. Structure, classification et implication des chimiokines dans la pathogenèse des MICI.
D'après Kraneveld 2008 ; Kohidai 1999.

Récemment, l'intérêt s'est porté vers les chaînes légères des Ig (ou IgLC pour Ig Light Chain) qui sont sécrétées par les lymphocytes B et peuvent se lier spécifiquement aux antigènes en l'absence de leurs chaînes lourdes (Kraneveld et al., 2008). Les IgLC sont impliquées dans des phénomènes de sensibilisation suite à l'activation directe des mastocytes (Redegeld et al., 2002; Rijnierse et al., 2009). Chez les patients présentant une MICI ou un SII, les niveaux sériques d'IgLC sont supérieurs à ceux de contrôles normaux (Kraneveld *et al.*, 2009, observations non publiées). Compte tenu du rôle des mastocytes et des interactions neurones-mastocytes dans les réponses d'inflammation et d'hyper-sensibilité et de ces données récentes sur le développement de réponses antigéniques par les IgLC, il a été proposé que les Ig et les IgLC sont à l'origine de l'activation directe des mastocytes et des neurones sensoriels dans les MICI et le SII (Kraneveld et al., 2008; Rijnierse et al., 2009).

L'exposition répétée ou continue à des antigènes potentiels comme les bactéries luminales, les nématodes, les allergènes alimentaires ou les auto-antigènes peut initier une réaction inflammatoire en induisant la production d'Ig et d'IgLC. Ce mécanisme permet de rendre compte aussi bien de l'exacerbation de l'inflammation dans les MICI actives ou en rémission que de l'hypothèse selon laquelle une inflammation légère est à l'origine du SII, par le truchement des interactions neuro-immunitaires.

A.III. Interactions neuro-immunitaires

A.III.1. Système nerveux entérique

Les processus inflammatoires décrits dans les MICI et le SII-PI conduisent à une forte concentration de cellules immunitaires et de médiateurs inflammatoires dans la muqueuse intestinale. Cette "soupe inflammatoire" baigne alors les nerfs entériques, créant les conditions d'une sensibilisation des afférences nerveuses et de l'hyperalgie viscérale.

A.III.1.a. Organisation du tissu intestinal

Structure pariétale

L'ensemble du tube digestif présente une organisation caractéristique avec, de l'extérieur vers l'intérieur, quatre tuniques successives : la séreuse, la musculuse, la sous-muqueuse et la muqueuse (Figure 11) (Knowles and Aziz, 2009).

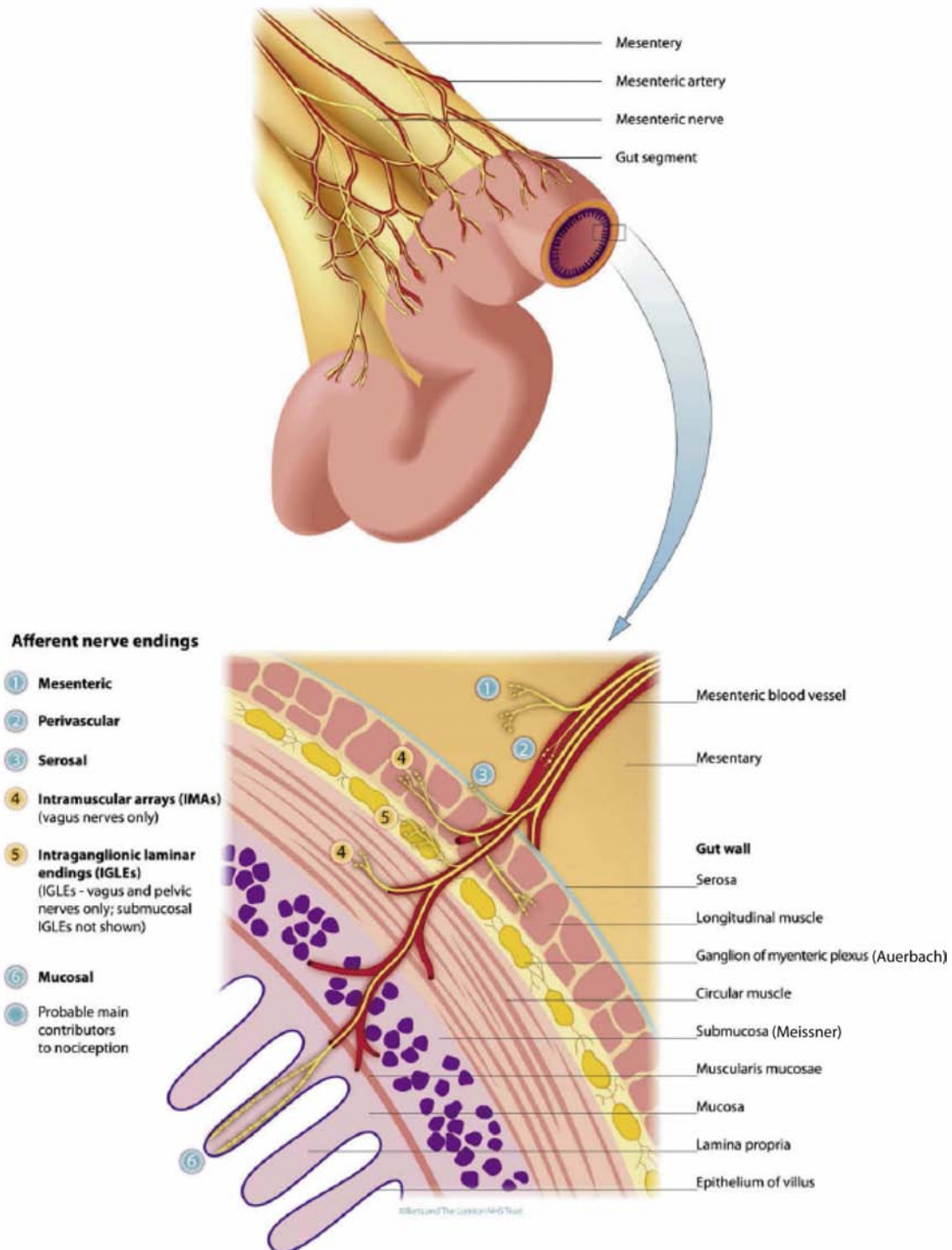


Figure 11. Vascularisation, innervation et structure de la paroi digestive. D'après Knowles & Aziz, 2009.

La séreuse est une tunique fine formée de cellules mésothéliales en continuité avec le mésentère et adhérent de façon intime à la musculuse. La musculuse est constituée de fibres musculaires lisses disposées en deux couches : une couche longitudinale externe et une couche circulaire interne. Entre la couche circulaire et la couche longitudinale s'insèrent les plexi nerveux myentériques (ou plexi d'Auerbach). La sous-muqueuse se compose d'un tissu conjonctif lâche à fibres de collagène et de quelques fibres élastiques, permettant le glissement de la muqueuse par rapport à la musculuse. Elle abrite un riche réseau artériel, veineux et lymphatique, ainsi que les plexi nerveux sous-muqueux (ou plexi de Meissner). La muqueuse diffère considérablement d'un segment intestinal à l'autre, reflétant ainsi des activités fonctionnelles différentes. Elle est constituée de trois couches successives: la *muscularis mucosae* (musculaire muqueuse), formée de deux couches musculaires minces orientées de façon longitudinale puis circulaire; la *lamina propria*, composée d'un tissu conjonctif fin et réticulé, riche en lymphocytes et en polynucléaires éosinophiles ; et l'épithélium monostratifié. Tous les éléments de la *lamina propria* et de la *muscularis mucosae* se prolongent dans les villosités dont elles constituent le support axial.

Vascularisation

La vascularisation du tube digestif est assuré par le sang artériel distribué par les artères mésentériques qui se subdivisent en vaisseaux sous-séreux, en vaisseaux perforants qui traversent la musculuse, les plexi sous-muqueux et intra-muqueux et les réseaux capillaires intra-glandulaires. Le retour veineux suit un chemin analogue.

A.III.1.b. Innervation

Les fibres nerveuses non-myélinisées de petit diamètre (ou fibres C) constituent la quasi totalité de l'innervation sensorielle du système gastro-intestinal. Cette innervation est complexe puisque le système nerveux entérique (SNE) possède son propre système nerveux formé de plexi entériques (innervation intrinsèque) mais est également contrôlé par le SNC (ou innervation extrinsèque) (Blackshaw and Gebhart, 2002; Knowles and Aziz, 2009).

Innervation intrinsèque

Les neurones des plexi myentériques contiennent des neurones sensoriels qui innervent le muscle lisse circulaire, les ganglions myentériques et sous-muqueux et l'épithélium afin d'assurer la régulation de la motilité intestinale par les cellules interstitielles de Cajal (rôle pacemaker ou dans la neuro-transmission) et la sécrétion de médiateurs nécessaires au fonctionnement de l'intestin (cellules neuro-endocrines et cellules immunitaires) (Cooke, 1989). Les plexi sous-muqueux contiennent des neurones sensoriels non-adrénergiques non-cholinergiques (ou NANC) qui communiquent avec les plexi myentériques et les nerfs moteurs afin de réguler les transports ioniques et aqueux de l'épithélium muqueux et des vasculatures sanguine et lymphatique (Cooke, 1989). Dans la paroi intestinale, les synapses réciproques entre plexi myentériques et sous-muqueux forment un réseau associant de nombreux inter-neurones (Holzer, 2001). Ce réseau dense permet d'assurer le réflexe péristaltique, de coordonner les réflexes viscéro-viscéraux (entre l'estomac et l'intestin par exemple) et d'adapter la réponse aux stimuli en provenance de la lumière intestinale. La paroi intestinale contient en effet les "récepteurs" intra-muraux qui sont des neurones intrinsèques afférents primaires convoyant les informations luminales aux plexi. Ces neurones répondent aux stimuli mécaniques (contraction, relaxation, distension) ou chimiques dans les conditions physiologiques. D'autres neurones "récepteurs", polymodaux, sont activés par des stimuli nociceptifs mécaniques, chimiques ou osmotiques et sont aussi appelés nocicepteurs. Au-delà de cette innervation intrinsèque dense, les plexi intestinaux sont également innervés extrinsèquement par le SNA sympathique (nerfs spinaux thoraco-lombaires) et parasympathique (nerfs crâniens et spinaux sacrés) (Cooke, 1986; Holzer, 2001).

Voies afférentes

Les neurones NANC extrinsèques qui convoient l'information de l'intestin vers le cerveau empruntent différentes voies en fonction du segment intestinal innervé. Ils se répartissent en afférences vagues provenant des ganglions nodulaires (nodose ganglia) et en afférences spinales provenant des ganglions rachidiens dorsaux (GRD ou ganglions spinaux) (Holzer, 2001) (Figure 12 et Figure 13).

En fonction du niveau du tractus gastro-intestinal, les afférences sensibles empruntent des voies nerveuses différentes (Figure 13). Une première voie relaie les informations en provenance de la partie haute du tractus digestif : œsophage et estomac via les afférences vagues ; duodénum, jéjunum et iléon via les afférences splanchniques

supérieures. Ces afférences ont leurs corps cellulaires dans les ganglions mésentériques, hypogastriques et dans les ganglions pré-vertébraux et projettent directement dans le tronc cérébral (noyau du tractus solitaire). Une seconde voie relaie les informations en provenance de la partie basse du tractus digestif : intestin grêle, côlon et organes urogénitaux via les nerfs splanchniques inférieurs et les nerfs pelviens. Ce sont les afférences spinales dont les corps cellulaires se situent dans les ganglions pré-vertébraux et spinaux (ou ganglions rachidiens dorsaux). Ces afférences projettent leurs terminaisons dans la corne dorsale de la MEp puis vers le noyau para-sympathique bulbaire et le noyau du tractus solitaire, le thalamus et le système limbique (Holzer, 2001; Blackshaw and Gebhart, 2002; Anand et al., 2007; Knowles and Aziz, 2009).

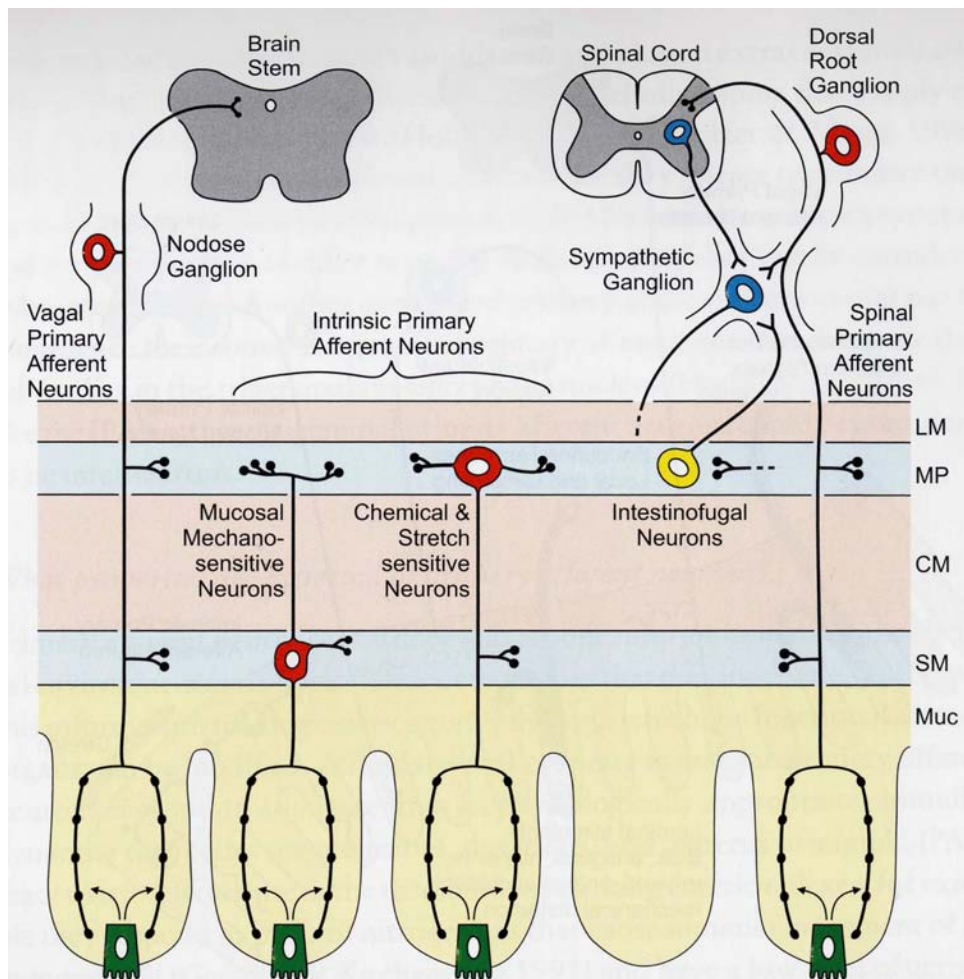


Figure 12. Afférences et efférences nerveuses intestinales. D'après Furness 2006, *The Enteric Nervous System*, Blackwell Publishing. Deux classes de neurones afférents primaires intrinsèques (IPAN intrinsic primary afferent neurons) ont été identifiées : les IPAN myentériques répondent à la distorsion des muscles et aux stimuli chimiques luminaux ; les IPAN sous-muqueux répondent à la distorsion de la muqueuse et aux stimuli chimiques luminaux. Les neurones afférents primaires extrinsèques ont leur corps cellulaire dans les ganglions spinaux et dans les ganglions vagues. Les neurones afférents primaires spinaux envoient des terminaisons dans les ganglions pré-vertébraux (sympathiques) et dans la paroi intestinale. LM, muscle lisse ; CM, muscle circulaire ; MP, plexus myentérique ; SM, sous-muqueuse ; Muc, muqueuse.

Il est à noter que le côlon distal ou côlon descendant, impliqué dans les MICI et surtout le SII, innerve à la fois la MEp thoraco-lombaire via les nerfs hypogastriques, lombaires coliques et splanchniques inférieurs et la MEp lombo-sacrée via les nerfs lombaires coliques, splanchniques supérieurs et pelviens (de Groat, 1987; Grundy and Scratcherd, 1989; Blackshaw and Gebhart, 2002).

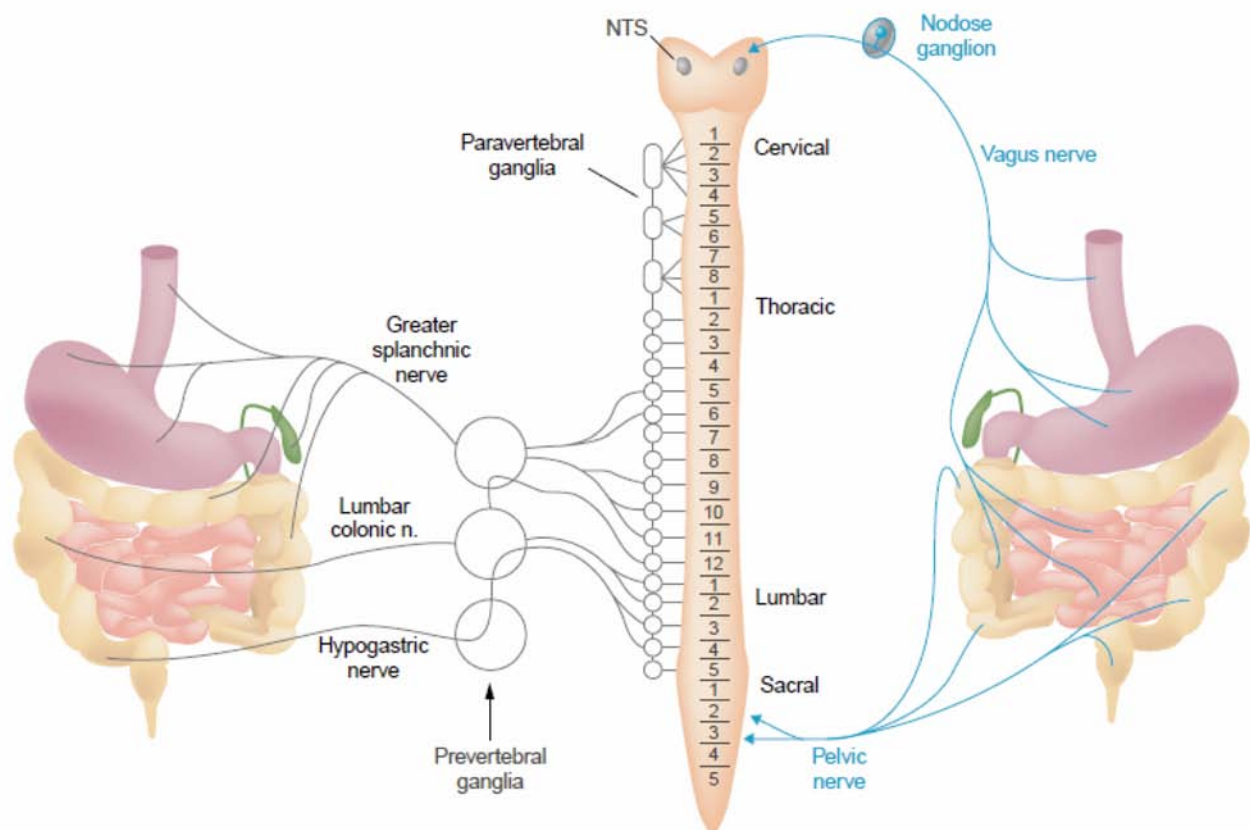


Figure 13. Efférences du tractus gastro-intestinal. D'après Blackshaw & Gebhart, 2002. L'innervation sensorielle du tractus gastro-intestinal se compose de voies afférentes empruntant les ganglions pré-vertébraux et para-vertébraux rejoignant la MEp et de voies afférentes pelviennes et vagales empruntant les ganglions spinaux et vagues, respectivement.

Voies efférentes

Les nerfs thoraco-lombaires ou sympathiques naissent dans les segments thoraciques et lombaires de la MEp, traversent les ganglions para-vertébraux et passent via les nerfs splanchniques dans les ganglions pré-vertébraux. De là, ils forment 3 grands ganglions : le ganglion coeliaque se distribue en nerfs oesophagiens, stomacaux et duodénaux, le ganglion mésentérique supérieur se distribue en nerfs intestinaux en deçà de la partie proximale du côlon et le ganglion mésentérique inférieur se distribue en nerfs coliques de la flexure hépatique jusqu'au rectum. Les nerfs crânio-sacraux ou para-

sympathiques sont constitués de 2 contingents : les nerfs vagues (ou X ou pneumogastrique) qui fusionnent au-dessus du diaphragme pour former les troncs vagues qui se distribuent dans les viscères abdominales gastro-intestinales jusqu'au côlon ascendant ; et les efférences sacrées issues des segments sacrés de la MEp qui forment les nerfs pelviques et pudendaux et se distribuent dans le côlon descendant, le rectum et le plancher pelvien (de Groat, 1987; Grundy and Scratcherd, 1989; Blackshaw and Gebhart, 2002). Ces efférences modulent les activités végétatives intestinales (sécrétion, motilité...) en fonction des informations fournies par le SNC (*cf.* Chapitre D.II.).

A.III.1.c. Axe cerveau-intestin

L'axe cerveau-intestin coordonne les fonctions motrices et sécrétoires de l'intestin et traite les sensations en provenance du tractus digestif et ce jusqu'au niveau du cortex cérébral (Shanahan, 1999; Delvaux, 2004; Mulak and Bonaz, 2004; Kellow et al., 2006). Ce système de communication entre le SNE et le SNC est bi-directionnel. Du SNE vers le SNC, cette communication passe par les voies nerveuses sensibles et les interactions neuro-immunitaires. Du SNC vers le SNC, des voies nerveuses (système nerveux autonome SNA), neuro-endocrines (axe hypothalamo-hypophysaire) et neuro-immunitaires sont mises en jeu.

Des stress psychologiques peuvent moduler la réponse immunitaire au niveau de l'intestin par l'axe hypothalamo-hypophysaire et par le SNA. A l'inverse, les signaux afférents de l'intestin au cerveau sont impliqués dans les réflexes de régulation des fonctions digestives mais ils peuvent aussi jouer un rôle dans diverses fonctions de régulation de l'émotion, de la sensibilité douloureuse et dans la réponse immunitaire. Ainsi, bien que le SNE contrôle le fonctionnement du tractus gastro-intestinal de façon autonome, c'est le jeu des activations et inhibitions centrales descendantes des voies du SNC, du SNA et du SNE qui module la sensibilité, la motricité, l'activité sécrétoire, l'irrigation et l'immunité du système digestif (Shanahan, 1999). L'état émotionnel peut alors perturber cet équilibre et modifier les profils moteurs intestinaux ou la sensibilité du tractus digestif dans les MICI et le SII (Anand et al., 2007).

A.III.2. Troubles sensoriels périphériques

Chez de nombreux patients avec un SII, la perception viscérale est plus fine que chez les sujets normaux. Des études ont montré, en utilisant des techniques de distension des organes creux, que leurs seuils de sensibilité sont plus bas (hyper-sensibilité viscérale HSV) non seulement au niveau du côlon descendant (Ritchie, 1973) mais aussi pour l'ensemble du tube digestif : œsophage (Trimble et al., 1995), estomac (Simren et al., 2001), duodénum (Fukudo et al., 2002), iléon (Kellow et al., 1988) et côlon sigmoïde (Drewes et al., 2001). Les troubles de la sensibilité sont limités à la sphère viscérale (Accarino et al., 1995) puisque des patients avec un SII ne présentent pas d'hyper-sensibilité somatique à la douleur (Cook et al., 1987).

Les patients SII-D ont des seuils diminués pour les sensations de ballonnement, d'inconfort, de défécation ou d'urgence fécale lors d'une DCR progressive, associés à une activité contractile réflexe du rectum excessive (Ritchie, 1973; Prior et al., 1990). Pour les patients SII-C, les études sont contradictoires avec la manifestation d'une sensation d'inconfort pour des seuils de DCR plus élevés (Prior et al., 1990) ou à l'inverse une hyper-sensibilité rectale ou sigmoïde (Chang et al., 2000). Les patients chez qui la douleur est prédominante ont une perception viscérale augmentée lors de la distension anale, recto-sigmoïde et iléale (Ritchie, 1973; Prior et al., 1990; Mertz et al., 1995; Chang et al., 2000). Cependant, ces corrélations ne sont pas nettes et seule l'association entre l'altération de la perception rectale et l'intensité des douleurs abdominales est reproductible (Dong et al., 2004; Kwan et al., 2005).

Cependant, il faut bien noter que l'HSV est la caractéristique d'un sous-groupe de patients. Tous les patients atteints de SII ne sont pas forcément hyper-sensibles et il n'y a pas de corrélation entre l'HSV et la symptomatologie.

A.III.3. Troubles moteurs

Des profils moteurs anormaux ont été décrits dans la MC et la RCH (O'Brien and Phillips, 1996). Il existe peu d'études et leur interprétation est sujette à caution compte tenu de facteurs individuels variables tels que le degré de sévérité de la maladie, l'existence d'une chirurgie antérieure, le suivi d'un traitement ou les effets des symptômes obstructifs ou diarrhéiques. Une vidange gastrique et un temps de transit oro-caecal lents

sont communs dans la MC (Tursi et al., 2003). Les études manométriques ont révélé une dysfonction du sphincter anal (Chrysos et al., 2001). Les zones enflammées présentent en général une activité contractile réduite du muscle lisse et une prévalence élevée de contractions se propageant par bouffées dans l'intestin grêle proximal (Annese et al., 1997). Ces changements moteurs concourent à la promotion d'un transport rapide du contenu du côlon recto-sigmoïde et à l'apparition de diarrhées et de crampes. Ils sont de plus associés à des modifications des neurones entériques comme la mort des cellules interstitielles de Cajal dans les plexi musculaires (Porcher et al., 2002) et à une augmentation de la libération des neuro-transmetteurs entériques (SP substance P, CGRP calcitonin gene-related peptide et VIP vaso-active intestinal peptide) dans la muqueuse colique (Koch et al., 1987; Mazumdar and Das, 1992; Mantyh et al., 1995; Tomita et al., 2000).

Dans le SII, les profils contractiles sont perturbés (Maxwell et al., 1997). La présence de contractions de grande amplitude se propageant par bouffées dans l'iléon terminal (McKee and Quigley, 1993a, 1993b), une réponse motrice jéjunale exagérée à l'ingestion (Quigley, 1999, , 2005a) et des anomalies du complexe moteur migrant (Kellow et al., 1988; Kellow et al., 1990) ont été rapportées. Ces anomalies motrices sont associées à une augmentation de l'expression des récepteurs à la cholécystokinine CCK1 (Varga et al., 2004), au VIP (Zhang et al., 2008) et à une augmentation de l'expression de la substance P et des neuropeptides Y et YY (Simren et al., 2003). Globalement, le SII se caractérise par une sur-activité péristaltique dans l'iléon, le jéjunum (Kellow et al., 1988; Evans et al., 1996) et le côlon (Clemens et al., 2003b; Clemens et al., 2003a). Ces anomalies induiraient la rétention abdominale de gaz. Certains patients atteints de SII ayant une intolérance (allergie) intestinale aux gaz, la rétention de gaz constituerait une base pour l'activation de la réponse inflammatoire (Serra et al., 2001).

En conclusion, les études de motricité intestinale et colique n'ont jamais permis de mettre en évidence un profil moteur typique des patients présentant des douleurs fonctionnelles dans le SII, hormis dans le SII-D où l'on observe un transit accéléré couplé à une activité motrice générale diminuée et dans le SII-C où l'on observe une augmentation de l'activité motrice stationnaire couplée à une diminution de l'activité propulsive. Ces changements, plus quantitatifs que qualitatifs, indiquent que les troubles de la motilité ne sont pas spécifiques des MICI ou du SII (Collins et al., 1999) ce qui est confirmé par l'absence de corrélation entre le décours temporel des troubles moteurs et les symptômes douloureux et par l'absence d'amélioration des symptômes par des

traitements ciblant la motilité intestinale aussi bien chez l'homme qu'en pré-clinique. Cependant, les variations d'expression des neuro-transmetteurs ou hormones intestinales (CCK, VIP, NPY, NPY, CGRP et SP) dans les MICI et le SII font suspecter des anomalies de l'appareil neuro-musculaire entérique. L'altération du couplage sensori-moteur peut être responsable des symptômes intestinaux comme cela a été montré dans le cas d'une dysfonction des plexi myentériques chez des patients atteints de RCH (Neunlist et al., 2003). De telles altérations sensori-motrices sont majoritairement la conséquence d'interactions chroniques entre les cellules immunitaires et les terminaisons nerveuses (Collins, 1996).

A.III.4. Inflammation neurogène

L'inflammation neurogène est une réaction locale initiée par les contacts entre cellules immunitaires et terminaisons nerveuses lors de réponses immunitaires à une infection, à des toxines ou à un trauma. Elle est médiée par les cytokines pro-inflammatoires et par les neuro-peptides libérés par les terminaisons nerveuses locales. Les cytokines libérées stimulent la libération de neuro-peptides. En retour, les neuro-peptides modulent la fonction mucoale, participent au recrutement des granulocytes et des lymphocytes et modulent l'activation des mastocytes. Enfin, une prolifération et une croissance des fibres nerveuses s'opèrent sur le site de l'inflammation (Le Bars and Adam, 2002; Richardson and Vasko, 2002). L'ensemble de ces processus conduit à un changement du phénotype des fibres nerveuses qui aboutit à une sensibilisation des terminaisons mucoales (sensibilisation périphérique).

A.III.4.a. Infiltration mucoale de cellules immunitaires

L'infiltration de cellules immunitaires dans la muqueuse intestinale et à proximité des terminaisons nerveuses entériques est très largement décrite dans l'anatomopathologie des MICI, et du SII dans une moindre mesure. Les MICI sont caractérisées par une forte présence de cellules dendritiques activées (matures), de lymphocytes T CD4+ (populations Th1, Th2 et cellules natural killer NK et NKT), de cellules B et de macrophages dans tout l'épithélium et en particulier dans la lamina propria (Cobrin and Abreu, 2005; Baumgart and Carding, 2007; Kraneveld et al., 2008). Dans le SII, la lamina

propria et les cryptes épithéliales peuvent être infiltrées par des lymphocytes T, aussi bien dans le SII-PI que dans les autres formes de SII. L'infiltration lymphocytaire serait plus marquée dans la forme SII-D que dans le SII-C (Kirsch and Riddell, 2006). Plus de 50% des patients avec un SII présentent des caractéristiques inflammatoires marquées avec une augmentation des lymphocytes intra-épithéliaux, une infiltration de neutrophiles, de mastocytes, de macrophages et de cellules NK dans la lamina propria (Chadwick et al., 2002; Dunlop et al., 2003). L'ensemble de la muqueuse est touché puisque l'infiltration lymphocytaire gagne également les plexi myentériques (Tornblom et al., 2005).

A.III.4.b. Contacts immuns aux terminaisons nerveuses

La densité élevée de cellules immunitaires actives au voisinage des neurones entériques constitue le pré-requis à l'activation des afférences viscérales par la "soupe" inflammatoire. De plus, MICI et SII sont associés à une croissance nerveuse et à une activation des nerfs et des cellules immunitaires, ce qui facilite les interactions neuro-immunitaires directes.

Une augmentation du nombre d'afférences entériques exprimant la SP et la 5HT est effectivement décrite dans les biopsies recto-sigmoïdes de patients avec un SII. Ces fibres sont situées autour d'aggrégat de mastocytes (O'Sullivan et al., 2000). Dans les MICI, on retrouve une activation du SNE avec une augmentation de l'expression de nombreux neuro-peptides et neuro-transmetteurs (oxyde nitrique, VIP, PACAP pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, NGF, CGRP) et des antigènes du CMH de classe II (HLA-DR) dans les neurones et les cellules gliales de la muqueuse et de la sous-muqueuse (Barbara et al., 2004a). La distance entre les fibres axonales du SNE et les cellules inflammatoires (incluant mastocytes et lymphocytes) est réduite chez les patients atteints de SII comparativement aux témoins. En particulier, les mastocytes se regroupent au niveau des nerfs entériques chez les malades (Barbara et al., 2004b) et les médiateurs mastocytaires (histamine, tryptase) libérés dans la muqueuse contribuent à l'hyper-excitabilité des nerfs sensoriels nociceptifs viscéraux (Barbara et al., 2007). De plus, les fibres non myélinisées de type C immuno-réactives pour le VIP et la SP ont des contacts membranaires directs avec les plasmocytes dans la muqueuse des patients avec une MC (Feher et al., 1997).

Dans les modèles animaux de MICI, l'hyper-sensibilité colique est fortement

corrélée à une activation des neurones, qui se traduit par une production élevée de neuro-peptides SP, CGRP et VIP. L'utilisation d'antagonistes des récepteurs NK1 et NK2 permet de diminuer la douleur viscérale et l'infiltration granulocytaire observées dans le côlon d'animaux présentant une colite induite par le TNBS (Improta et al., 2003) ou une colite induite par le DNBS (Ursino et al., 2009). Dans le modèle DSS, la colite s'accompagne d'une infiltration de cellules T CD4+ et d'une forte expression de SP corrélée à l'augmentation des réponses à la DCR (Verma-Gandhu et al., 2007).

L'interaction bi-directionnelle entre les neuro-peptides libérés par les nerfs et les médiateurs inflammatoires libérés par les mastocytes alimente la stimulation des fibres nerveuses et initie l'hyperalgie viscérale dans sa phase aiguë.

A.III.4.c. Sensibilisation périphérique

Pendant l'inflammation, les interactions neuro-immunitaires peuvent changer le phénotype des neurones entériques mais aussi des muscles lisses et conduire à des interactions chroniques entre les cellules immunitaires et l'appareil neuro-musculaire. Le réseau complexe de neuro-peptides et de neuro-transmetteurs permettant la communication entre cellules épithéliales, éosinophiles, mastocytes, glie entérique et neurones contribue à l'initiation et à l'amplification de l'inflammation, à la perturbation de la motilité et à la médiation de la douleur. Cela a été montré pour l'IL1 (Tjwa et al., 2003) ou encore le NO, l'histamine et les protéases (Collins et al., 1999) qui peuvent modifier le fonctionnement des nerfs entériques et activer des réponses sécréto-motrices inadaptées (Collins et al., 1999; De Giorgio et al., 2004). Ce phénomène de sensibilisation périphérique est à l'origine de l'hyperalgie viscérale consécutive à l'inflammation. Mécanistiquement, la sensibilisation des nerfs entériques résulte d'un switch du phénotype des neurones sensoriels qui transmettent l'information viscérale vers le système nerveux central. Le switch phénotypique des neurones sensoriels implique une augmentation de l'expression des canaux membranaires (TRPV1, ASIC, P2X/P2Y, canaux sodiques et calciques dépendant du voltage) et des neurotrophines (NGF, GDNF).

A.IV. Mini-synthèse #02

MICI VERSUS SII : DEUX ENTITES INFLAMMATOIRES?

La revue des altérations de la physiologie du côlon dans les MICI et le SII décrit de multiples anomalies de la réponse immunitaire à la flore et aux pathogènes intestinaux. Ces données sont très nettes pour les MICI et préfigurent un schéma immuno-pathogénétique relativement complexe (Figure 14).

En ce qui concerne le SII, l'infiltration de mastocytes dans la lamina propria est une donnée qui tend à être reconnue. De plus, les taux élevés de cytokines (IL17), d'IgE et IgM ainsi que des médiateurs pro-inflammatoires (IL1, IL6, TNF α) suggèrent une réponse cellulaire pro-inflammatoire dans le SII.

Les nombreux modèles animaux rendent bien compte de l'étiopathogénèse immunitaire des MICI (délétion de gènes codant des cytokines, des voies de différenciation ou d'activation lymphocytaire...) tandis que les modèles animaux de SII impliquent la flore colique (modèle alimentaire avec des instillations de butyrate) ou le système nerveux central (modèles de stress) (Tableau XIV).

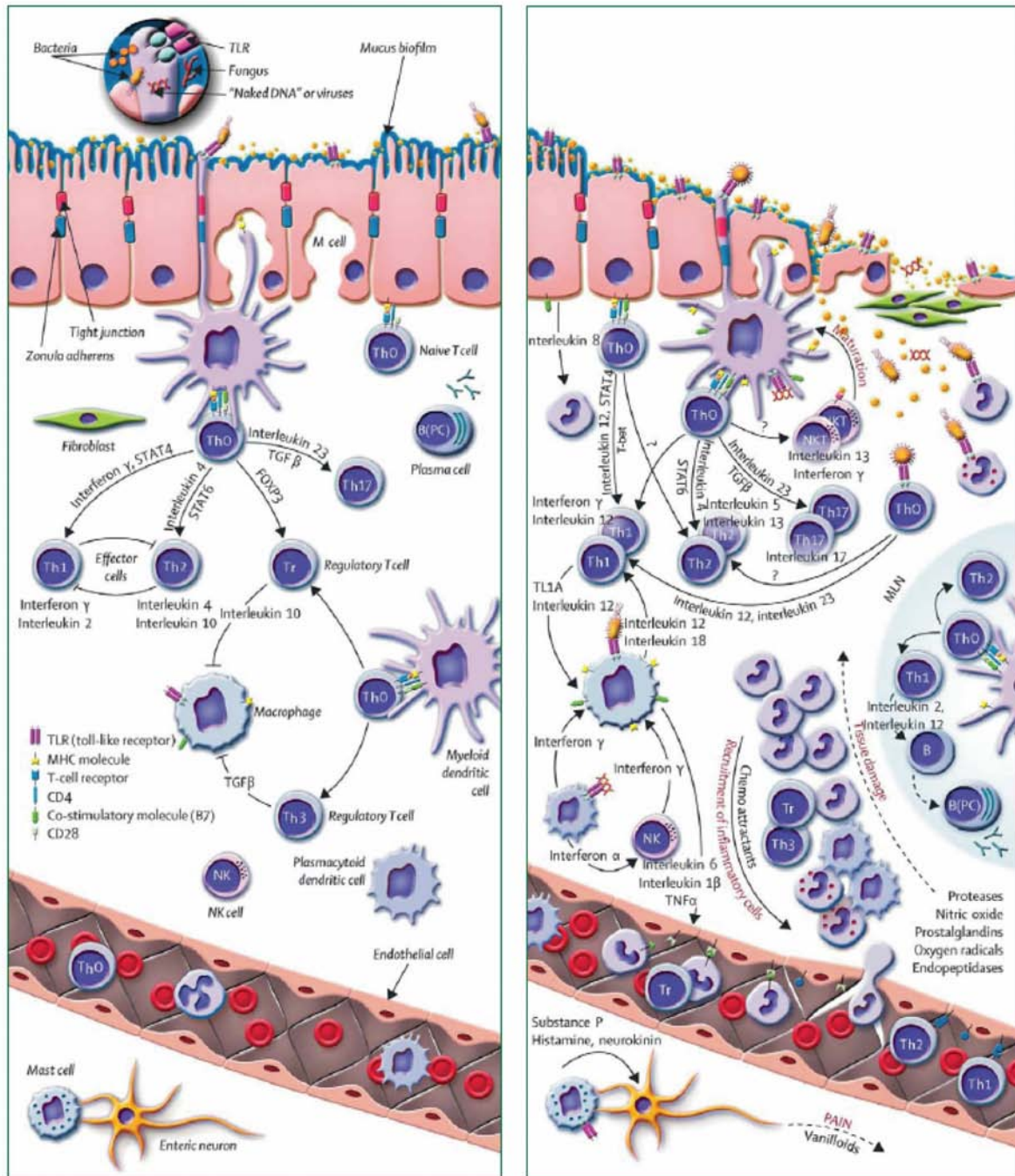


Figure 14. Immuno-pathogénèse des MICI. D'après Baumgart & Carding, 2007. *Gauche* : En l'absence d'inflammation, les antigènes luminaux sont présentés par les CPA et les cellules épithéliales expriment des molécules de co-stimulation qui assurent l'anergie des cellules Th0 de la muqueuse. Les cellules B différenciées en plasmocytes sécrètent des IgA protectrices. Les CD contrôlent la réponse immunitaire en régulant l'activation des cellules NK et l'équilibre des populations T effectrices (Th1, Th2, Th17) et régulatrices (Treg, Th3). Les différentes cellules effectrices (granulocytes, mastocytes, cellules NK et NKT, macrophages) restent dans leurs compartiments respectifs. *Droite* : Dans les conditions inflammatoires des MICI, l'équilibre de la réponse immunitaire intestinale est perturbé à tous les niveaux. Les antigènes luminaux accèdent à la lamina propria, déclenchent et entretiennent la réponse immunitaire en activant les CD. Les CD perdent alors leur statut tolérogène et activent les Th1, Th2, Th17 et les cellules NK T. L'expression de profils de TLR et de molécules de co-stimulation du CMH différents chez les CPA non-professionnelles amplifie les processus de différenciation lymphocytaire en activant également les Th0. Dans les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN), les cellules B se différencient en plasmocytes. Les cytokines libérées (IL12, IL17, IFN, chimiokines) favorisent la différenciation des cellules T effectrices et recrutent les macrophages qui libèrent du TNF et des médiateurs nociceptifs sur le site.

Modèles animaux de MICI et de SII							
Mécanisme ciblé	Modèle	Implication de la flore colique	Effet sur l'immunité innée	Réponse T exacerbée	Mécanismes de régulation altérés	Maladie modélisée	Référence
Flore colique / alimentation	Rats HLA-B27	Oui	X			MICI	Rath et al. 2001
	DSS (voie orale)	Oui	X			MICI	Okayasu et al. 1990
	Eau glacée (voie orale)	?	?	?	?	SII	Xu et al. 2006
	Butyrate (voie rectale)	Non (?)				SII	Bourdu et al. 2005
Perméabilisation de la barrière épithéliale	Mutant MUC2	Oui	X			MICI	Van der Sluis et al. 2006
	Mutant CDH2	Oui	X			MICI	Hernimston & Gordon 1996
	KO EP4	Probable	X	X		MICI	Kabashima et al. 2002
	KO MDR1a	Probable	X			MICI	Parwalia et al. 1998
	KO Gai2	?	X		X	MICI	Rudolph et al. 1995
	TNBS/éthanol	?	X	X		MICI	Elson et al. 1996
	Sensibilisation mécanique	?	X	X		MICI	Al-Chaer et al. 2000
	DSS (voie orale)	Probable	X			MICI	Cooper et al. 1993
	Indométhacin (voie orale)	?	X	X		MICI	Mann & Demers 1983
	Carragénine (voie orale)	Probable	X			MICI	Onderdonk et al. 1985
	Huile de moutarde (voie orale)	Probable	X	X		SII	Kimball et al. 2005
	Polymères PG-PS (voie rectale)	?	X	X		MICI	Sartor et al. 1985
	Iodocetamide (voie rectale)	Probable	X	X		MICI	Satch et al. 1997
	Oxazolone (voie rectale)	Probable	X	X		MICI	Boirivant et al. 1998
	Acide acétique (voie rectale)	Probable	X	X		MICI	Elson et al. 1995
Immunité innée	Mutant F508-JAB (Socs1)	?	X		X	MICI	Suzuki et al. 2001
	KO STAT3	Probable	X		X	MICI	Takeda et al. 1999
	KO A20	?	X	X		MICI	Lee et al. 2000
	KO IL10	Oui				MICI	Kuhn et al. 1993
	NFkB p50-/- p65-/-	?	X			MICI	Tomczak et al. 2003
	KO TGFb1	Non	X		X	MICI	Kulkarni et al. 1995
	C3H/HeJBr	Oui	X	X		MICI	Sundberg et al. 1994
	SAMP/Yit	Oui	X	X		MICI	Matsumoto et al. 1999
	KO TLR2-/- NOD2-/-	Oui	X	X		MICI	Watanabe et al. 2006
	KO NEMO	Oui	X	X		MICI	Nenci et al. 2007
	KO IKK	Oui	X	X		MICI	Nenci et al. 2007
	Trichinella spiralis	?	X	X		MICI	Valentino et al. 1999
Immunité adaptative (cellules T effectrices)	Mutant STAT4	Probable		X		MICI	Wirtz et al. 1999
	KO CD40L	?		X		MICI	Clegg et al. 1997
	Mutant TNFa deltaARE	?		X		MICI	Kontoyannis et al. 1999
	KO A20	?	X	X		MICI	Lee et al. 2000
	C3H/HeJBr	Oui	X	X		MICI	Sundberg et al. 1994
	SAMP/Yit	Oui	X	X		MICI	Matsumoto et al. 1999
Immunité adaptative (cellules T régulatrices)	Cyclosporine A	Non	X	X		MICI	Bucy et al. 1993
	KO Gai2	?	X		X	MICI	Rudolph et al. 1995
	KO STAT3	Probable	X		X	MICI	Takeda et al. 1999
	KO IL10	Oui				MICI	Kuhn et al. 1993
	CD4 ⁺ , CD45RBhi transfert	Oui			X	MICI	Pownie et al. 1993
	KO IL2	Oui			X	MICI	Sedlack et al. 1995
	KO IL2Ra	Probable			X	MICI	Willeford et al. 1995
	KO TCRa	Oui			X	MICI	Mizoguchi et al. 1996
	KO TGFb1	Non	X		X	MICI	Kulkarni et al. 1995
	KO TGFbRII	?			X	MICI	Gorelik et al. 2000
Stress	KO Smad3	?			X	MICI	Ashcroft et al. 1999
	Privation maternelle	Non				SII	Coutinho et al. 2002
	Contrainte de mouvement	Non				SII	Xu et al. 2006
	Stress post-traumatique	Non				SII	Stam et al. 1996

Tableau XIV. Modèles animaux de MICI et de SII. D'après Rijnierse *et al.*, 2007 ; Elson *et al.*, 2005 ; Elson *et al.*, 1995.

Les modèles animaux confirment que l'altération de la flore colique induit des réponses immunitaires inadaptées. La stimulation pathologique des systèmes nerveux périphérique et central module également l'immunité intestinale (Shanahan, 1999). Les processus immunitaires pourraient donc être à la base du développement de l'hyper-sensibilité colique aussi bien dans les MICI que dans le SII. L'équilibre entre les différentes cytokines déterminerait alors le devenir de l'inflammation et ainsi la nature de la pathologie se développant (Figure 15) (Kraneveld *et al.*, 2008). Il faut néanmoins pondérer cette assertion. La majorité des modèles animaux de SII ne permettent pas de dissocier l'HSV

d'une inflammation aiguë intense.

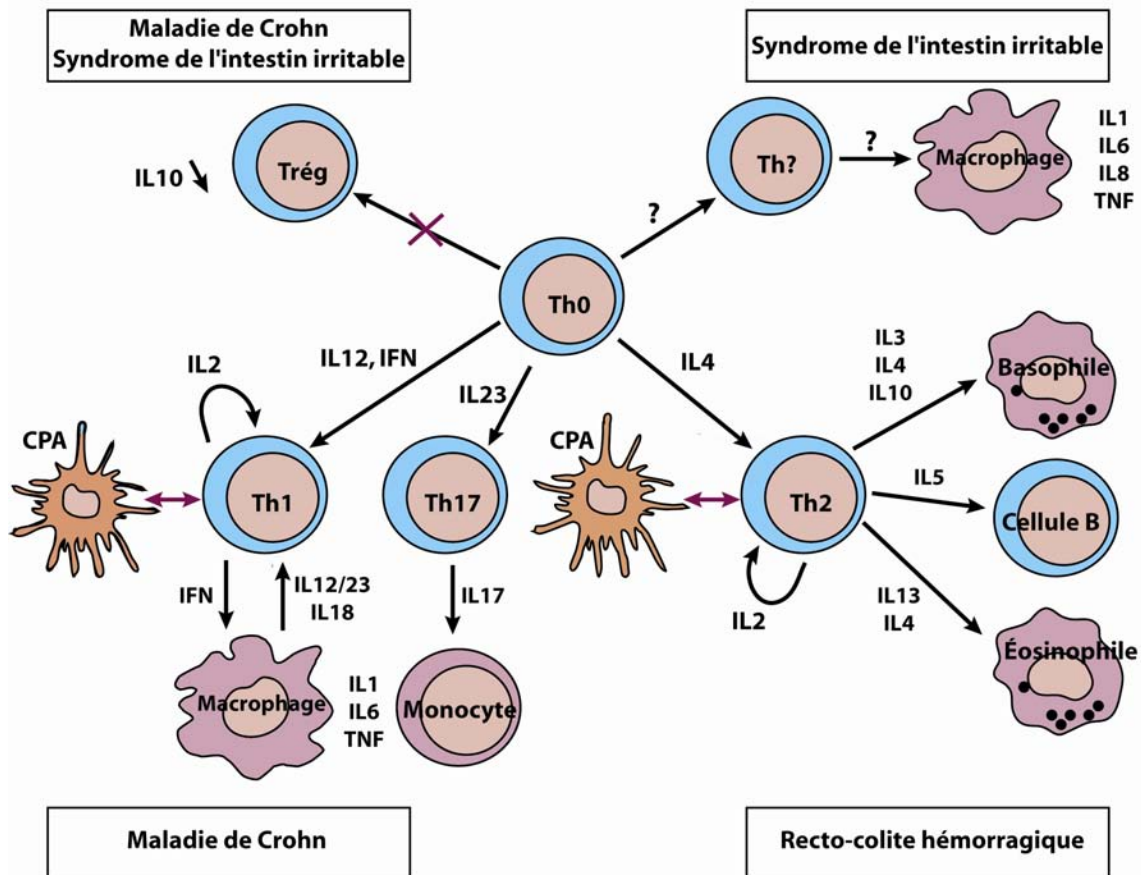


Figure 15. Détermination du type de pathologie se développant en fonction du statut inflammatoire. D'après Kraneveld 2008. Suite à une inflammation initiale, la perte de tolérance et d'anergie a pour conséquence la différenciation des Th0 en cellules T effectrices. Le profil d'expression des cytokines, dépendant des conditions inflammatoires et de facteurs génétiques, définit l'engagement des Th0 vers une réponse Th1/Th17 (MC) ou Th2 (RCH). La conjonction du défaut de différenciation des Th0 en Treg et de la différenciation des Th0 en une population T effectrice favorisant l'activité macrophagique serait responsable du SII.

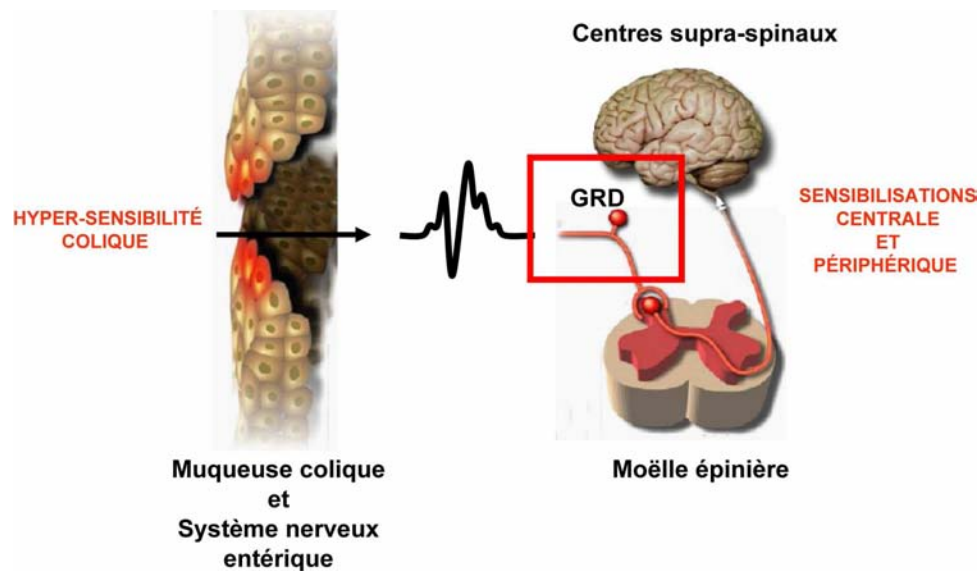
Dans le SII, l'inflammation joue un rôle subtil et elle pourrait plus intervenir comme un initiateur de mécanismes physio-pathologiques que comme une cause propre. L'inflammation dans les MICI est causale et repose sur une vulnérabilité génétique avérée. L'inflammation de faible degré dans le SII serait plutôt une conséquence comme l'indiquent les modifications de la flore colique et le rôle majeur de l'environnement. Dans les deux cas, l'inflammation ouvre la voie à l'installation de mécanismes neurogènes induisant l'hyperalgie viscérale.

En résumé, la vulnérabilisation de la muqueuse colique par une altération de la flore colique (MICI et SII), des infections (MICI et SII) et l'alimentation (SII) conduit à une inflammation (MICI et SII) dont le degré est déterminé par les facteurs génétiques

individuels (MICI). Par le biais des relations neuro-immunitaires, les cellules immunitaires et les médiateurs inflammatoires sensibilisent les neurones entériques de la muqueuse colique et rendent possible la mise en place des phénomènes de sensibilisation périphérique et centrale à l'origine de l'HSV.

Le chapitre 2. B. se propose de décrire les mécanismes moléculaires responsables de la sensibilisation des nocicepteurs viscéraux.

B. Ganglion spinal



Dans la paroi intestinale, les terminaisons sensibles des nerfs vagues et des nerfs spinaux détectent les stimuli nociceptifs. Les axones de ces nerfs sont pour la grande majorité non-myélinisés (fibres C : diamètre de 0,3 à 1,5 μ m ; vitesse de conduction lente de 0,4 à 2m/s) bien qu'une minorité soit faiblement myélinisée (fibres A δ : diamètre de 1 à 5 μ m ; vitesse de conduction modérée de 4 à 30m/s). Leurs corps cellulaires sont situés dans les ganglions mésentériques (nerfs vagues) ou dans les GRD pour les afférences spinales. Les afférences spinales véhiculent le message nociceptif même si les afférences vagues contribuent aussi à certaines conditions physio-pathologiques (Cervero, 1994; Gebhart, 2000). Ce chapitre se focalisera donc sur les mécanismes neuro-plastiques aboutissant à une hyper-excitabilité des neurones sensoriels des GRD.

B.I. Nocicepteurs

B.I.1.a. Définition

Les nerfs périphériques véhiculent des informations somesthésiques, motrices et végétatives. Les messages nociceptifs sont codés au niveau des terminaisons libres amyéliniques qui forment des arborisations plexiformes dans les tissus cutanés, musculaires et articulaires. Les terminaisons libres amyéliniques des fibres nerveuses périphériques A δ et C sont appelées nocicepteurs. Rassemblées au sein des nerfs spinaux, elles conduisent les messages vers la MEp (Guirimand and Le Bars, 1996).

Au niveau viscéral, les fibres C spinales constituent la quasi totalité des fibres afférentes nociceptives. Outre les terminaisons muqueuses qui participent à la chimio-nociception (Longhurst, 1995), il existe trois groupes d'afférences (Christianson et al., 2008). Les mécano-récepteurs toniques (ou wide dynamic range WDR) ont une activité tonique de repos et répondent linéairement à la tension de la paroi intestinale dès les bas seuils jusqu'à de hauts seuils ce qui en fait également des mécano-nocicepteurs. Les mécano-récepteurs phasiques (ou à haut seuil) ont une activité de repos faible et répondent à des intensités de distension nociceptives et sont donc considérés comme des mécano-nocicepteurs. Ces récepteurs innervent la paroi intestinale mais aussi le mésentère et les séreuses. Ce sont aussi des chimio-récepteurs capables de répondre aux médiateurs inflammatoires et à l'ischémie (Longhurst, 1995; Le Bars and Adam, 2002). Enfin, les nocicepteurs silencieux sont des mécano-nocicepteurs actifs uniquement après exposition aux médiateurs inflammatoires (Le Bars and Adam, 2002).

B.I.1.b. Profil neuro-chimique des nocicepteurs

Les fibres afférentes primaires de type C peuvent être classées en deux catégories selon leur profil neuro-chimique. Elles peuvent être peptidergiques ou non-peptidergiques (Figure 16). Les neurones sensoriels formant les fibres peptidergiques expriment spécifiquement des peptides comme le CGRP et la substance P mais aussi le récepteur TRPV1 et les récepteurs TrkA et p75 à la neurotrophine NGF. Les fibres peptidergiques sont responsables de l'inflammation neurogène. Ces fibres se projettent dans les couches les plus superficielles I et IIo ("outer") de la corne dorsale de la MEp qui contiennent des

neurones exprimant le récepteur NK1 à la substance P. Elles sont différenciables facilement par immuno-histo-chimie grâce à des marquages du CGRP ou du trkA. Les fibres non-peptidergiques n'expriment ni la substance P ni le CGRP. En revanche, elles sont caractérisées par l'expression des récepteurs à la neurotrophine GDNF (RET, GFRA) et des récepteurs purinergiques P2X₃ à l'ATP et par la présence de la thiamine monophosphatase (ou fluoride-resistant acid phosphatase FRAP). Histologiquement, les fibres non-peptidergiques peuvent être mises en évidence par un marquage à l'isolectine B4. Electrophysiologiquement, elles se caractérisent par une forte densité de canaux sodiques insensibles à la tétrodothine (SNS/PN3). Les courants induits sont faibles et la durée des potentiels d'action particulièrement longue ce qui se traduit par des seuils d'activation plus élevés et des réponses moins nombreuses mais par une efficacité synaptique accrue. Ces fibres se projettent exclusivement dans la couche Ili ("inner") de la corne dorsale de la MEp qui ne contient que des inter-neurones répondant aux stimuli mécaniques non nociceptifs (Guirimand and Le Bars, 1996; Hunt and Mantyh, 2001).

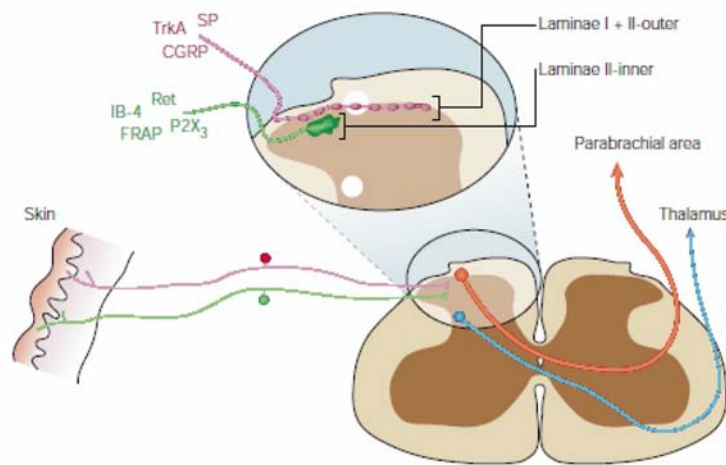


Figure 16. Terminaisons des fibres C dans la corne dorsale de la MEp. D'après Hunt & Mantyh, 2001. Les fibres C diffèrent par leur contenu peptidergique et la couche spinale (lamina) où elles font synapse. CGRP, calcitonin gene-related peptide; FRAP, fluoride-resistant acid phosphatase; IB4, IB4-lectin-binding site; P2X₃, purine receptor; Ret, glial-cell-derived neurotrophic factor receptor tyrosine kinase; SP, substance P; TrkA, tyrosine receptor kinase A.

B.II. Sensibilisation périphérique

La sensibilisation périphérique définit une forme de plasticité de la réponse des nocicepteurs à un stimulus répété ou à l'inflammation. Dans un contexte de lésion et/ou d'inflammation, la stimulation plus prolongée et intense du nocicepteur conduit à un

changement de son phénotype qui lui permet de produire des PA pour des seuils de dépolarisation plus bas que ceux habituellement provoqués par un stimulus nociceptif aigu.

B.II.1. Signalisation sensorielle

Les potentiels d'action sont générés par l'ouverture des canaux ioniques sodiques dépendants du voltage en réponse à un stimulus dépolarisant. Ils s'achèvent par la combinaison dans le temps de l'inactivation de ces canaux et de l'ouverture de courants potassiques sortants dépendants du voltage (Glazebrook et al., 2002). Le déclenchement des potentiels d'action (PA) dans le contexte d'un stimulus mécano-nociceptif dépendrait des canaux sodiques sensibles à la tétrodoxtine NaV1.7 (TTX-S) (Akopian et al., 1999) tandis que les canaux sodiques résistants TTX-R Nav1.8 et Nav1.9, localisés préférentiellement dans les nocicepteurs de type C, ont un rôle tonique sur l'excitabilité membranaire et peuvent ainsi amplifier les stimuli de faible intensité (Amir et al., 2006). Ce profil d'activation de conductances membranaires bien décrit au niveau des afférences somatiques est vraisemblablement identique au niveau viscéral (Rugiero et al., 2003; Coste et al., 2004).

La transduction membranaire de stimuli nociceptifs viscéraux nécessite la génération de courants par des canaux ioniques possédant un seuil élevé d'activation par des changements mécaniques, chimiques ou thermiques. Il existe principalement trois grandes familles de canaux ioniques jouant ce rôle : (1) les canaux TRP activables par des stimulations chimiques, thermiques ou mécaniques, (2) les canaux ASIC activables par les ions H⁺ et (3) les canaux purinergiques P2X activables par l'ATP.

B.II.2. Neuro-plasticité des nocicepteurs

Toute lésion organique consécutive à l'inflammation déclenche des phénomènes précoces au premier rang desquels chaleur et libération de médiateurs inflammatoires comme l'ATP, les ions H⁺ et K⁺, la bradykinine, les prostaglandines, la sérotonine, l'histamine et les cytokines. Ces stimuli peuvent sensibiliser les nocicepteurs directement en modifiant les cinétiques électrophysiologiques des canaux dépendants du voltage et des canaux cationiques TRP, ASIC et P2X. Cependant, la majorité des effets de ces

médiateurs (bradykinine, prostaglandines, histamine, sérotonine, NGF, protéases) passent par la liaison à des récepteurs métabotropiques couplés à une protéine G (RCPG) qui vont permettre l'intégration du stimulus douloureux à l'échelle cellulaire (Woolf and Ma, 2007). L'activation de voies de signalisation intra-cellulaires permet la mise en place de phénomènes tardifs tels que des synthèses protéiques aboutissant à un changement (switch) du phénotype des neurones sensoriels qui deviennent hyper-excitables (seuils de transduction des afférences primaires réduits) et à un recrutement des nocicepteurs silencieux (Woolf and Salter, 2000; Julius and Basbaum, 2001). La sensibilisation des afférences nerveuses primaires gastro-intestinales peut encore être accentuée par les interactions entre les neurones sensoriels et les cellules épithéliales et inflammatoires qui produisent des neuro-peptides (SP, CGRP) et des neurotrophines (NGF). La Figure 17 résume les bases moléculaires des voies de signalisation nociceptive viscérale avant et après sensibilisation (Knowles and Aziz, 2009).

B.II.2.a.Canaux ioniques

Les canaux ioniques qui participent à la génération du PA en réponse à un stimulus nociceptif (NaV, CaV) et les récepteurs canaux qui modulent ce PA (TRP, ASIC, P2X...) sont situés dans la membrane plasmique du neurone au niveau du corps cellulaire, des terminaisons libres et des prolongements cellulaires.

Récepteur TRPV1

Les récepteurs canaux TRP (transient receptor potential) sont exprimés notamment dans les neurones afférents de petit diamètre (Mezey et al., 2000), dans les afférences du tractus digestif et dans les nerfs extrinsèques (Geppetti and Trevisani, 2004; Holzer, 2009) où ils participent aux processus nociceptifs, en particulier TRPV1, TRPV4 et TRPA1 (Caterina et al., 1999; Dhaka et al., 2006; Brierley et al., 2008). Le récepteur TRPV1 (TRP Vanilloid 1) est particulièrement intéressant pour son rôle dans la douleur somatique et dans l'HSV. Le TRPV1 est un canal calcique activé par la capsaïcine, substance appartenant à la famille des vanilloïdes. Il est également activé par les stimuli thermiques nociceptifs supérieurs à 43°C et son seuil d'activation est modulé par le pH (une acidification à pH6,4 abaisse son seuil d'activation à 37°C), le froid (influence inhibitrice) et des récepteurs tels que le trkA (Caterina and Julius, 2001). L'hyper-excitabilité de TRPV1

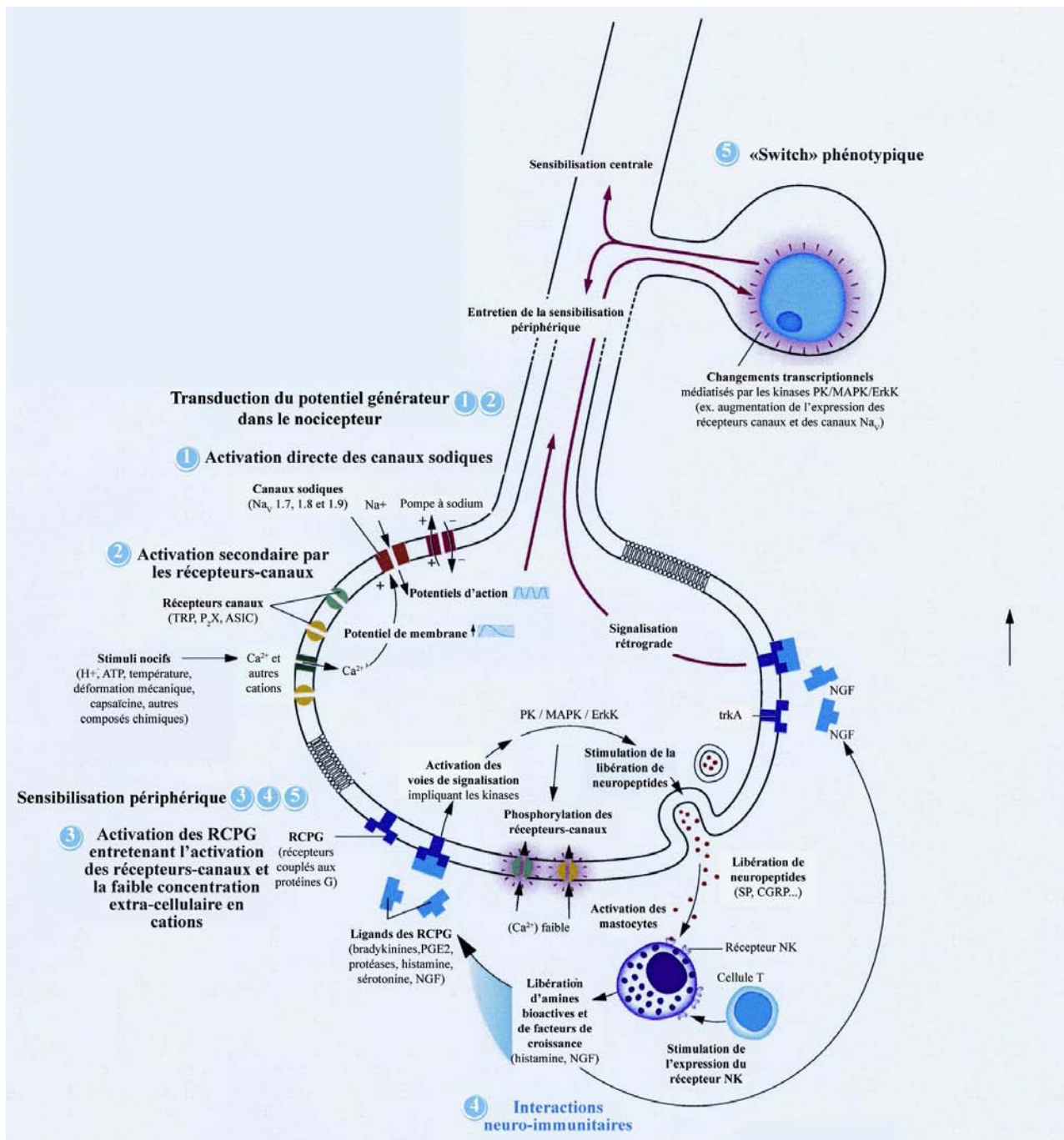


Figure 17. Bases moléculaires périphériques de la signalisation viscérale nociceptive avant (1 et 2) et après (3 à 5) sensibilisation. D'après Knowles & Aziz, 2009.

en réponse à une diminution du pH serait la cause des hyperalgies inflammatoire et ischémique (Hellwig et al., 2004). L'augmentation de l'expression de TRPV1 dans les neurones sensoriels fait aussi partie des changements phénotypiques induits par les médiateurs inflammatoires comme la bradykinine, les prostaglandines ou les neurotrophines NGF et GDNF (Geppetti and Trevisani, 2004). Les caractéristiques du TRPV1 semblent être la cause de l'hyper-sensibilité observée dans de multiples affections

touchant le tractus gastro-intestinal. Dans le prurit anal (Lysy et al., 2003), l'hyper-sensibilité rectale (Chan et al., 2003) et le reflux gastro-intestinal (Matthews et al., 2004), l'acidité induite par l'inflammation pourrait être à l'origine de la sur-expression de TRPV1 dans les fibres nerveuses. Chez les patients atteints de MICI avec symptômes douloureux, le nombre de neurones exprimant TRPV1 est significativement augmenté dans la muqueuse colique (Yiangou et al., 2001a). Dans le SII, les mêmes observations rapportant une sur-expression du TRPV1 muqueux ont très récemment été faites chez des patients présentant une inflammation (Akbar et al., 2008; Hughes et al., 2009). Ces changements sont très probablement la conséquence de l'effet du NGF dont la production est très augmentée sur le site de l'inflammation (cf. Chapitre B.II.2.b).

Canaux ASIC

Les canaux sensibles à l'acide ASIC (acid-sensing ion channel) appartiennent à la famille des canaux sodiques épithéliaux et des "dégénérines" de *C. elegans* (DEG/ENaC). Il existe six sous-unités s'assemblant en homo- ou hétéro-trimères pour former des canaux fonctionnels : les isoformes ASIC1a et ASIC1b, les isoformes ASIC2a et ASIC2b, ASIC3 et ASIC4 (Waldmann et al., 1996; Lingueglia et al., 1997; Waldmann et al., 1997b; Waldmann et al., 1997a; Chen et al., 1998; Akopian et al., 2000). Les ASIC sont exprimés majoritairement dans le système nerveux central et dans les neurones sensoriels (Garcia-Anoveros et al., 2001), y compris les nocicepteurs somatiques et viscéraux (Voilley et al., 2001; Alvarez de la Rosa et al., 2002; Mamet et al., 2003; Page et al., 2005; Holzer, 2007; Page et al., 2007). Alors que l'activation de TRPV1 dépend de l'acidification à des pH physiologiquement extrêmes ($\text{pH} < 6,0$) (Caterina and Julius, 2001), les canaux ASIC sont plus sensibles aux protons et s'activent pour de faibles variations de pH (Waldmann et al., 1997a). Cette propriété leur confère un rôle dans la nociception et l'HSV car les lésions tissulaires s'accompagnent d'une acidose locale. Les ASIC sont exprimés dans les neurones entériques où ils assurent la mécano-sensation et la mécano-perception colique et gastro-esophagienne (Page et al., 2004; Page et al., 2005; Page et al., 2007). Le canal ASIC3, qui est sur-exprimé chez les patients atteints de MICI (Yiangou et al., 2001c) et dans les états douloureux inflammatoires et viscéraux (Voilley et al., 2001; Jones et al., 2005; Wultsch et al., 2007) est une cible potentielle pour le traitement de la douleur inflammatoire et de l'HSV.

Récepteurs P2X

Les récepteurs P2X et P2Y sont des récepteurs ionotropiques calciques, activés respectivement par l'ATP et l'ADP extra-cellulaires. Ils sont exprimés dans les neurones sensoriels notamment ceux de l'intestin (Van Crombruggen et al., 2007). L'ATP, libéré par les neurones extrinsèques et sympathiques et les cellules en souffrance, est un médiateur impliqué dans l'initiation et la transmission du message douloureux (surtout d'origine ischémique ou vasculaire). Le récepteur P2X3 est exprimé spécifiquement par les nocicepteurs périphériques non-peptidergiques (Yiangou et al., 2000). Son expression est augmentée dans les biopsies coliques de patients atteints de MICI (Yiangou et al., 2001b). Ce résultat suggère que P2X3 pourrait contribuer à l'inflammation, la douleur et la dysmotilité intestinale dans les pathologies digestives (Christofi, 2008).

Canaux sodiques dépendants du voltage

Les canaux VGSC (voltage-gated sodium channels) sont présents dans le SNC et le SNP (Amir et al., 2006) où ils assurent la phase dépolarisante du PA en augmentant la perméabilité sodique de façon dépendante du voltage. En concertation avec les canaux K⁺, les VGSC modulent l'excitabilité des neurones sensoriels. Les canaux TTX-R NaV1.8 et NaV1.9 sont exprimés de préférence par les nocicepteurs des afférences sensorielles (Coste et al., 2007). En accord avec cette distribution tissulaire, NaV1.8 et NaV1.9 ont un rôle déterminant dans la transmission nociceptive puisque leurs états d'activation et d'inactivation sont modulés par la prostaglandine E2, la sérotonine et l'adénosine (Rush and Waxman, 2004; Amaya et al., 2006). Ces médiateurs inflammatoires diminuent le seuil d'activation et augmentent l'amplitude du courant généré par ces canaux, augmentant la probabilité de générer un PA et induisant ainsi une sensibilisation neuronale (Catterall et al., 1992). Ce mécanisme a été bien décrit dans les neurones sensoriels et entériques d'animaux sains (Coste et al., 2004; Priest et al., 2005) et dans des modèles d'inflammation somatique (Rush and Waxman, 2004; Maingret et al., 2008) et dans des modèles de douleur viscérale (Beyak et al., 2004; Beyak and Vanner, 2005; Ritter et al., 2009) mais aucune étude n'a à ce jour étudié leur rôle dans la physiopathologie viscérale humaine.

Canaux calciques dépendants du voltage

Les canaux VGCC (voltage-gated calcium channels ou CaV) activés par de hauts voltages (canaux CaV2.1 de type P/Q et CaV2.2 de type N) ou de bas voltages (canaux

CaV3 de type T) sont impliqués dans les mécanismes douloureux. Exprimés dans les neurones myotériques (Perez-Reyes, 2003), les terminaisons pré-synaptiques et le SNC, les canaux CaV2 et CaV3 sont de bonnes cibles pour le traitement des douleurs viscérales (McGivern, 2006). Les anti-convulsivants tels que la gabapentine et la prégabaline qui se fixent sur les sous-unités $\alpha 2\delta$ des CaV2 induisent une analgésie se traduisant par une réduction de l'hyperalgie dans les modèles de douleur (Taylor et al., 2007) comme le modèle d'inflammation viscérale au TNBS (Diop et al., 2002) ou les modèles de neuropathie (Luo et al., 2002). Les canaux de type T sont particulièrement intéressants de part leurs propriétés électrophysiologiques. Tout comme les Nav1.8 et 1.9, leur courant présente une composante TTX-R et ils ont un rôle tonique dans la génération du potentiel de membrane. Ils s'activent pour de faibles variations de potentiel et ont une dé-inactivation rapide qui leur confère la capacité de générer plusieurs PA à bas seuils consécutifs (Perez-Reyes, 2003). Ils sont ainsi responsables du signal douloureux dans les nocicepteurs périphériques et spinaux (Bourinet and Zamponi, 2005). Les canaux calciques contribueraient donc au phénomène de sensibilisation des afférences nociceptives (Bourinet et al., 2005). Bien qu'aucune étude n'ait rapporté une implication des VGCC dans les MICI ou le SII, en revanche, l'HSV et l'hyper-activité motrice de l'intestin sont associées à une augmentation de l'exocytose de calcium et de neurotransmetteurs (neuropeptides VIP, NPY, NK et SP, acétylcholine) ce qui constitue des conditions idéales pour l'activation de ces canaux (Smith et al., 2003). L'efficacité de bloqueurs sélectifs des canaux calciques sur la motricité digestive dans le SII confirme l'intérêt de ces canaux en tant que cible thérapeutique (Saad and Chey, 2008).

B.II.2.b. Médiateurs inflammatoires et leurs récepteurs

Après avoir été activés par les médiateurs inflammatoires (kinines, neurotrophines...) libérés sur le site de la lésion, les récepteurs tyrosine kinase (trk) et les récepteurs métabotropiques (RCPG) assurent la transduction du message nociceptif au niveau des terminaisons libres. Les voies de signalisation impliquent le recrutement de la phospholipase C, de l'adényl cyclase, de la guanylate cyclase, la libération de calcium et la synthèse de NO. L'activation consécutive des seconds messagers intra-cellulaires conduit à la modification des lipides membranaires, à la modification du patron d'expression et de distribution des protéines membranaires et à l'activation de gènes

précoces et tardifs (switch phénotypique : changements plastiques à long terme).

Récepteurs aux kinines

Les kinines ou tachykinines (substance P, neurokinine A, bradykinine et kallididine) participent au développement de l'hyperalgésie dans les conditions inflammatoires en stimulant la production de cytokines, en activant les voies de transduction de la synthèse d'acide arachidonique et en déclenchant la dégranulation d'histamine par les mastocytes. Les récepteurs aux kinines sont des RCPG. Le récepteur à la bradykinine B1 est inductible et synthétisé uniquement dans les conditions inflammatoires sous dépendance du facteur de transcription NFkB. Le récepteur B2, constitutif, conduit à l'activation et à la sensibilisation des nocicepteurs par la bradykinine en provoquant la libération de substance P et de CGRP (Holzer and Holzer-Petsche, 1997; Blaukat, 2003; Wang et al., 2006). Exprimés dans les neurones sensoriels et les neurones myentériques (Stadnicki et al., 2005), les récepteurs à la bradykinine font partie des acteurs de la sensibilisation viscérale, par exemple en réponse à l'IL1 β (Murakami et al., 2008). Le blocage des récepteurs B1 a ainsi montré des effets bénéfiques sur des patients atteints de MICI (Marceau and Regoli, 2008).

Le rôle de la substance P (SP) est quant à lui beaucoup plus documenté. La SP est un neuro-transmetteur et un neuro-modulateur qui augmente l'excitabilité des neurones sensoriels dans l'inflammation neurogène (Datar et al., 2004). Son récepteur NK1 est sur-exprimé dans la muqueuse, la musculuse et les cellules inflammatoires des côlons de patients avec une MICI, qu'ils présentent une inflammation ou non (Raithel et al., 1999; O'Connor et al., 2004; ter Beek et al., 2007). Dans le SII, les niveaux d'expression de SP sérique ne sont pas changés (Zhang et al., 2008) mais l'effet des neuropeptides étant local, sa quantification doit être entreprise au niveau tissulaire. En revanche, chez l'animal, plusieurs modèles de SII ont mis en évidence l'implication de la SP et de son récepteur. Par exemple, la densité de fibres exprimant la SP est augmentée dans le côlon et la MEp de rats présentant une hyper-sensibilité colique induite par l'instillation gastrique d'eau glacée (Amaya et al., 2006). L'usage d'antagonistes NK1 permet de réduire la libération d'histamine induite par la SP et la fréquence de défécation dans des modèles de SII induit par le stress (Okano et al., 2001; Okano et al., 2002; Greenwood-Van Meerveld et al., 2003). L'utilisation d'agonistes du NK1 est utilisée pour modéliser l'hyper-contractilité des cellules musculaires intestinales observée dans le SII (Improta and Broccardo, 2006). Enfin, dans le récent modèle d'hyper-sensibilité colique non inflammatoire induite par le

butyrate, les seuils de réponses à la distension colo-rectale sont augmentés par une destruction néo-natale des fibres C peptidergiques qui expriment la SP et le CGRP, un autre neuro-transmetteur impliqué dans la nociception viscérale (Bourdu et al., 2005).

Le CGRP et son RCPG CLR (calcitonin-like receptor) sont donc également des acteurs moléculaires potentiellement impliqués dans l'hyper-sensibilité colique. Dans le modèle butyrate, l'administration d'un antagoniste du CLR permet de réduire l'hyper-sensibilité colique de façon similaire au traitement néonatal à la capsaïcine (Bourdu et al., 2005). A l'inverse, de façon surprenante, dans un modèle animal de colite induite par le TNBS, l'utilisation d'un antagoniste du CGRP aggrave l'inflammation (Reinshagen et al., 1998) ce qui suggère que le CGRP pourrait avoir un effet protecteur vis-à-vis de la muqueuse et que le rôle nociceptif est dévolu à son récepteur (Smith and Smid, 2005).

Récepteurs aux neurotrophines

Les neurotrophines forment une famille de protéines comprenant le NGF, le BDNF (brain-derived neurotrophic factor) et les neurotrophines 3 (NT-3), 4/5 (NT-4/5) et 6 (NT-6, qui n'existe que chez les poissons de la classe des *Téléostéens*). Pendant le développement, les neurotrophines maintiennent en vie certaines sous-populations de neurones exprimant les récepteurs appropriés (Huang and Reichardt, 2001). Le récepteur de basse affinité p75NTR fixe toutes les neurotrophines. Chaque neurotrophine possède en outre un récepteur spécifique de haute affinité appartenant à la famille des récepteurs tyrosine kinase (trk). Le NGF se lie au trkA, le BDNF et la NT-4/5 se lient au trkB et la NT-3 se lie au trkC. Chez l'adulte, les neurotrophines modulent l'équilibre entre survie et apoptose cellulaires et régulent l'excitabilité neuronale et la fonction synaptique en activant des voies de signalisation intra-cellulaires (Figure 18) aboutissant à des changements neuro-plastiques dans les processus nociceptifs (Chao, 2003; Pezet and McMahon, 2006).

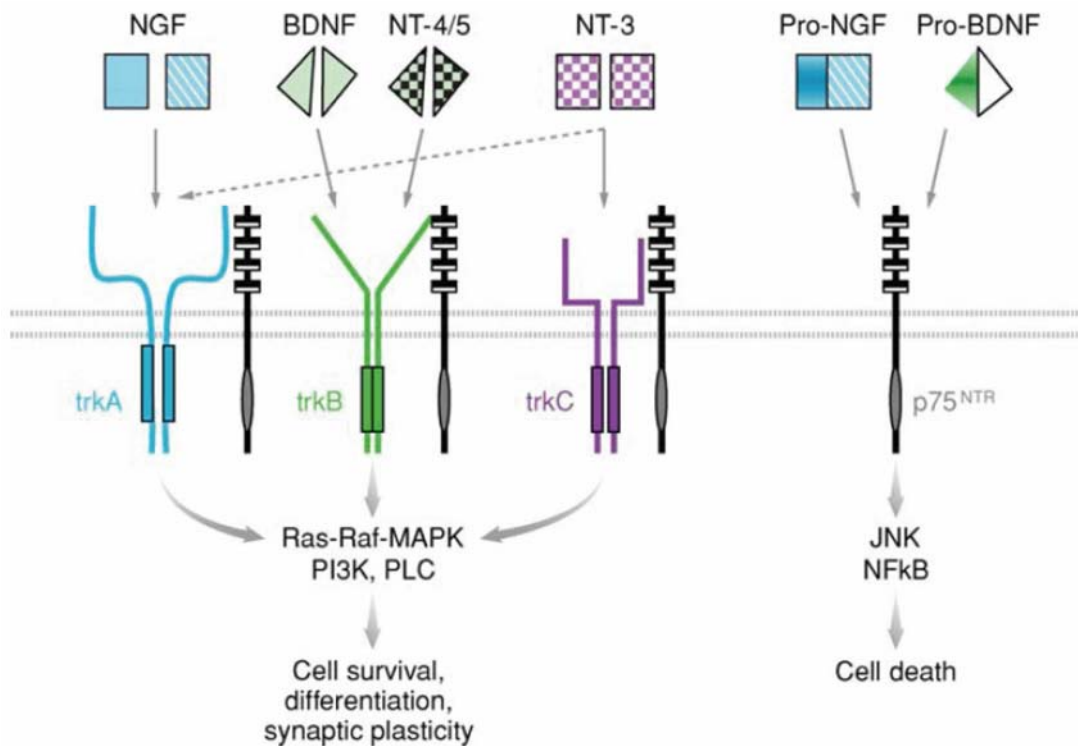


Figure 18. Récepteurs aux neurotrophines et voies de signalisation intra-cellulaire. D'après Pezet & McMahon, 2006. BDNF, brain-derived neurotrophic factor; JNK, Jun N-terminal kinase; NGF, NGF; NT, neurotrophin; trk, tropomyosine receptor kinase.

Au niveau des terminaisons nerveuses des neurones sensoriels, l'activation des récepteurs trk par les neurotrophines produites localement sensibilise les nocicepteurs (Patapoutian and Reichardt, 2001). De plus, les complexes trk-neurotrophine sont internalisés et constituent un message rétrograde qui exerce un contrôle transcriptionnel tardif dans le neurone.

Parmi ces neurotrophines, le NGF a été largement étudié *in vitro* sur des cultures de neurones sensoriels. Les voies de signalisation du NGF régulent l'expression de gènes impliqués dans la croissance nerveuse et la nociception dans les neurones exprimant le trkA (Pezet and McMahon, 2006). Des résultats similaires ont par la suite été observés *in vivo*. Parmi la large gamme d'effets du NGF sur le phénotype des nocicepteurs, on observe : (1) une augmentation de l'expression du CGRP et du BDNF suite à un traitement par le NGF (Michael et al., 1997; Bowles et al., 2004) ; (2) une augmentation de l'expression de récepteurs couplés à des canaux ioniques comme TRPV1 (Ji et al., 2002; Zhang et al., 2005), ASIC3 (Mamet et al., 2003) et P2X3 (Simonetti et al., 2006) et de RCPG comme le récepteur B2 à la bradykinine (Lee et al., 2002b) ou le récepteur opioïdérique μ (Mousa et al., 2007) ; (3) une augmentation des courants médiés par les canaux ASIC3 (Mamet et al., 2002), P2X3 (Giniatullin et al., 2008) et par les canaux

sodiques TTX-S et TTX-R (Fjell et al., 1999b; Fjell et al., 1999a) et (4) un "bourgeonnement" des fibres sympathiques post-ganglionnaires exprimant le trkA qui enveloppent ensuite les neurones sensoriels primaires et un bourgeonnement des nocicepteurs trkA-IR qui conduit à une hyper-innervation de l'épiderme et des autres tissus cibles du NGF (Ramer et al., 1999). Ces changements font du NGF une molécule clé dans les phénomènes d'hyper-sensibilisation des nocicepteurs.

Au niveau viscéral, le NGF est impliqué dans les états douloureux (di Mola et al., 2000; Chung et al., 2007), ce qui est en accord avec la distribution des récepteurs trkA et p75 dans les neurones sensoriels coliques (Lee et al., 2002a), les neurones myentériques (Lin et al., 2005a), les fibres nerveuses sympathiques (Reichardt, 2006) et les cellules immunitaires (Tabakman et al., 2004). L'administration de NGF exogène provoque une hyperalgie dans des modèles animaux de douleur viscérale (Dmitrieva and McMahon, 1996; Delafoy et al., 2003) tandis que la neutralisation de ce même NGF par des anticorps anti-NGF administrés par voie systémique empêche l'expression de la douleur (Delafoy et al., 2006; Guerios et al., 2006).

L'augmentation des niveaux d'expression du NGF et de ses récepteurs trkA et p75 a été décrite dans les MICI. Cette sur-expression est variable dans les cellules polynucléaires de la lamina propria, dans les mastocytes et dans une partie des plexi d'Auerbach et de Meissner et de la glie adjacente (Aloe and Levi-Montalcini, 1977; di Mola et al., 2000; Lee et al., 2002a). Par ailleurs, si le NGF participe à la nociception, il a aussi un rôle neuro-protecteur. Dans les biopsies de côlon de patients avec une RCH présentant un statut inflammatoire très sévère, le niveau d'expression des neurotrophines est réduit et traduit le dépassement des systèmes de protection de l'épithélium (Johansson et al., 2007). Aucune étude clinique n'a à ce jour étudié l'implication des neurotrophines dans la physio-pathologie du SII. Chez le rat, très récemment, il a été montré que le NGF participe au développement et au maintien des altérations de la sensibilité viscérale et de l'intégrité de la muqueuse dans le modèle de stress néo-natal par déprivation maternelle (Delafoy et al., 2006; Barreau et al., 2007).

Outre le rôle sensibilisateur du NGF sur les canaux ioniques (ASIC, TRPV1), une hypothèse avancée fréquemment est que le NGF produit par les mastocytes induit la croissance des nerfs dans leur direction (Stanzel et al., 2008) et que, réciproquement, les mastocytes activés au contact des nerfs libèrent du NGF en excès (Collins et al., 1999; Barbara et al., 2006). Dans les biopsies de patients présentant une hyper-sensibilité rectale, le lien entre NGF et croissance nerveuse a été confirmé puisque les muqueuses

rectales présentent un nombre augmenté de fibres sensorielles exprimant le NGF et le TRPV1 (Chan et al., 2003).

En conclusion, l'augmentation concomitante de l'expression du NGF et du trkA à la fois dans les structures nerveuses et lymphoïdes coliques supporte l'hypothèse d'interactions neuro-immunitaires dans la physio-pathologie des douleurs coliques chroniques. Les neurotrophines peuvent être considérées comme le lien entre ces deux systèmes ; en particulier, le rôle du NGF doit être étudié plus avant pour éclaircir ses implications dans les processus pathologiques (Skaper et al., 2001; Anand et al., 2007) et dans la protection de l'intestin contre l'inflammation (Tabakman et al., 2004).

B.III. Neuro-dégénération

Les études menées sur les changements plastiques dans les neurones sensoriels des ganglions suggèrent que les mécanismes de l'HSV reposent sur une augmentation de l'activité nerveuse et de l'innervation nerveuse du tissu cible, notamment par l'action de neurotrophines favorisant la croissance des fibres sensorielles. Cependant, dans les douleurs chroniques coliques, plusieurs indices laissent supposer que les mécanismes de neuro-protection sont défaillants et que des processus neuro-dégénératifs sont à l'œuvre.

Dans la MC, la microscopie électronique à transmission a permis de montrer morphologiquement que le nombre de terminaisons nerveuses dans l'iléon des patients est diminué (Szabo and Feher, 1991; Feher et al., 1997). Le nombre de lysosomes dans les corps cellulaires de ces fibres est augmenté (Szabo and Feher, 1991) ce qui suggère une dégénération neuronale, probablement liée à la production de radicaux libres par les neutrophiles (Nguyen et al., 2007). Des axones dégénérés ont pu être co-localisés avec des lymphocytes (Feher et al., 1997). De plus, les fibres nerveuses SP-IR ont un diamètre réduit dans le côlon des patients atteints de MC et de RCH (Watanabe et al., 1998). Ces résultats sont à mettre en parallèle avec une étude qui rapporte un niveau d'expression des neurotrophines réduit dans les MICI actives (Johansson et al., 2007). Les études cliniques sont confortées par des données pré-cliniques issues de modèles animaux de MICI (Miampamba and Sharkey, 1998; Sanovic et al., 1999; Boyer et al., 2005; Linden et al., 2005). Chez des patients présentant un SII avec une légère inflammation, une dégénérescence nerveuse a également été observée dans les plexi myenteriques du jéjunum (De Giorgio et al., 2002; Tornblom et al., 2002) mais les études sur le côlon

restent inexistantes.

La neuro-dégénération peut entraîner une polynévrite (démýélinisation) et une inflammation chronique des structures nerveuses participant à l'inflammation neurogène responsables des dysfonctions sensori-motrices dans les MICI et le SII. Ainsi, dans un modèle de lésion du nerf pelvien chez le rat, l'activité nerveuse et les seuils de douleur à la distension colo-rectale sont augmentés (Coutinho et al., 2000). Ce résultat suggère que, même en l'absence d'inflammation périphérique, l'atteinte d'un nerf viscéral peut sensibiliser les afférences spinales. Ce mécanisme pourrait rendre compte de l'effet aggravant ou générateur des interventions chirurgicales sur les troubles fonctionnels intestinaux.

En conclusion, les mécanismes responsables de la sensibilisation gastro-intestinale périphérique sont de même nature dans les MICI et le SII. Les mécanismes par lesquels les neurones des afférences viscérales primaires contribuent à l'HSV incluent l'inflammation périphérique, les atteintes nerveuses viscérales et les changements dans le nombre et/ou la fonction des canaux ioniques. Le NGF et le récepteur TRPV1 sont actuellement décrits comme les acteurs clés de la sensibilisation périphérique car ils sont au centre des mécanismes de la croissance nerveuse et de l'hyper-excitabilité des nocicepteurs (Figure 19).

Les changements neuro-plastiques peuvent provoquer des perturbations sensori-motrices de l'intestin à long terme même après résolution de l'inflammation (Collins, 1996). Le système nerveux intrinsèque (environ 100 millions de neurones intrinsèques *versus* 100 000 extrinsèques) ne transmet pas directement le message douloureux conscient mais participe à la libération de la SP et du CGRP en réponse aux stimuli nociceptifs et promeut l'inflammation neurogène (Furness, 2006).

Les mécanismes de sensibilisation périphérique induisent une HSV qui peut s'exprimer indépendamment d'une amplification des entrées sensorielles viscérales dans le SNC. Mais il est plus probable que les mécanismes périphériques agissent de façon

synergique ou causale avec les mécanismes centraux qui contribuent également aux douleurs viscérales¹.

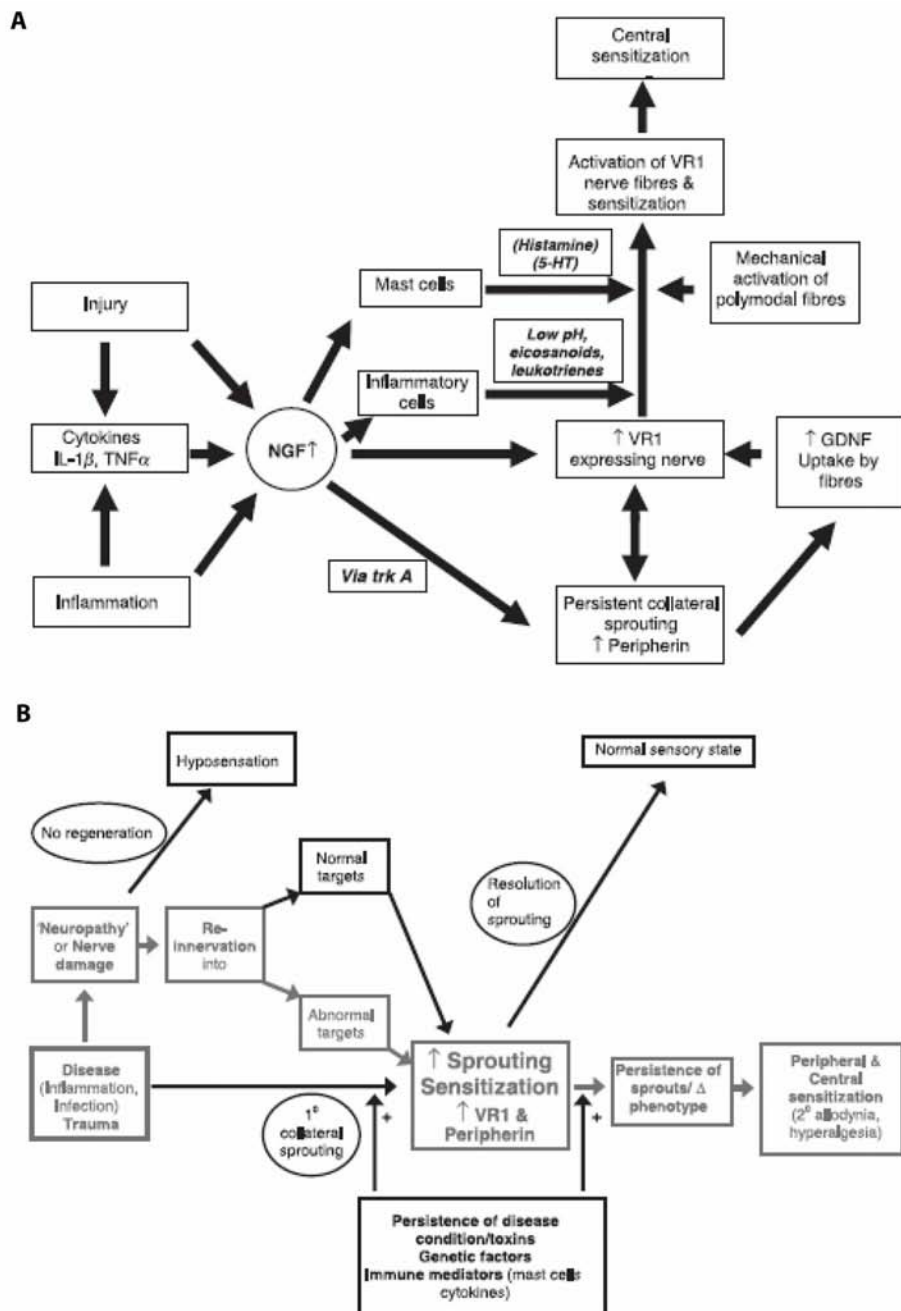
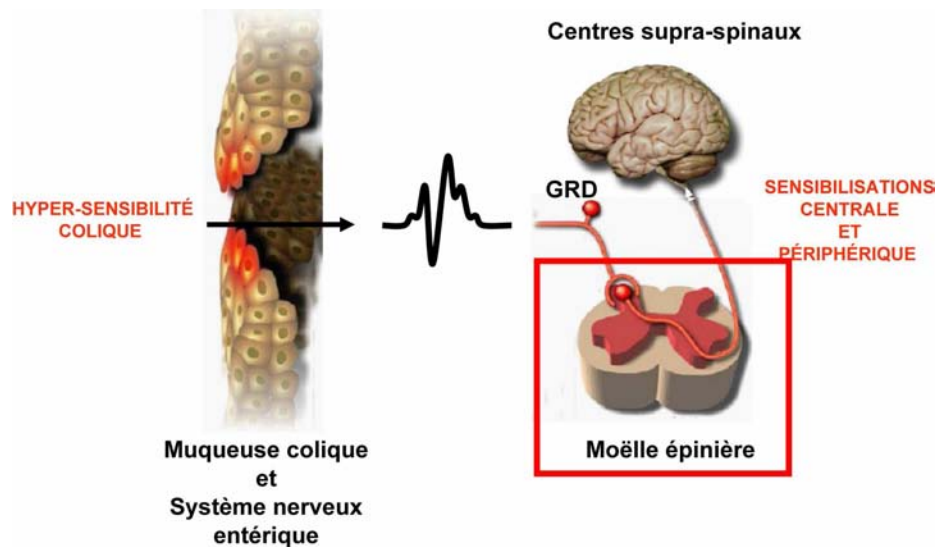


Figure 19. Mécanismes de la sensibilisation périphérique impliquant le NGF et le TRPV1. D'après Anand *et al.*, 2007. (A) Mécanismes moléculaires proposés pour l'hyper-sensibilité. (B) Voie possible conduisant à la douleur chronique et à l'hyper-sensibilité.

¹ C'est notamment le cas pour le SII-PI dont l'anamnèse indique que l'apparition des symptômes a lieu plusieurs mois après la résolution de l'infection gastro-intestinale. Durant ce laps de temps, les mécanismes centraux de l'HSV sont probablement mis en place.

C. Moëlle épinière



La chronicisation et l'amplification des douleurs viscérales repose sur le développement d'une réponse excessive des fibres afférentes primaires (hyper-réactivité des neurones sensoriels) au stimulus nociceptif viscéral. A un niveau anatomique supérieur, l'intensité du message douloureux en provenance de la périphérie peut encore être amplifié et renforcé lors de sa transmission vers les centres nerveux supérieurs. La MEp est le lieu de l'intégration de ce message en transit. C'est en effet dans la MEp qu'a lieu la première synapse entre le neurone sensoriel du GRD et les neurones du SNC et que s'opèrent les processus responsables de la sensibilisation centrale en réponse aux entrées nociceptives répétées : l'hyper-réactivité des nocicepteurs spinaux (augmentation du gain des synapses viscéro-spinales par la potentialisation à long terme ou PLT) et le recrutement de nocicepteurs spinaux silencieux.

C.I. Neurophysiologie spinale

C.I.1. Organisation fonctionnelle

C.I.1.a. Couches spinales

La substance grise (SG) de la MEp a été subdivisée en dix couches fonctionnelles (ou *laminae*) définies par Rexed selon le type d'innervation afférente ou efférente (Rexed,

1952). Les cinq premières correspondent à la corne dorsale (sensitive) ; les couches VI-VII à la zone intermédiaire ; les couches VIII-IX à la corne ventrale (motrice) et la couche X à la zone péri-épendymaire (Figure 20).

Les fibres périphériques entrent dans le SNC par les racines dorsales spinales pour se distribuer dans la MEp. Leur corps cellulaire (cellule de Dogiel, dite en T) se trouve dans le ganglion rachidien correspondant. A la jonction radiculo-médullaire, les fibres de gros calibre ($A\alpha\beta$) se séparent de celles de petit calibre ($A\delta$ et C) de sorte qu'à leur entrée dans la corne dorsale de la MEp, les fibres amyéliniques occupent la partie latéro-ventrale de la MEp alors que les fibres plus grosses ont une position médio-dorsale (Guirimand and Le Bars, 1996; Purves et al., 2005).

Les nocicepteurs $A\delta$ et C se divisent en une branche ascendante et une branche descendante et n'envoient des collatérales que vers les régions de la corne dorsale de la MEp, impliquées principalement dans la réception, le traitement et la transmission de l'information nociceptive. Après progression sur plusieurs segments dans la substance blanche (SB) dorso-latérale (tractus de Lissauer), les fibres $A\delta$ et C se projettent dans les différentes couches superficielles de la corne postérieure en fonction de leur origine. Les fibres cutanées se projettent essentiellement dans les couches I et II. Les fibres $A\delta$ se projettent en outre sur les couches V. Les projections d'origines viscérale et musculaire sont très différentes des afférences cutanées puisqu'elles évitent la lamina II, III et IV. Les afférences musculaires se terminent dans les laminae I, V et VI et les afférences viscérales dans les couches I, V, VII et X (Guirimand and Le Bars, 1996). On constate par conséquent une convergence anatomique des afférences nociceptives cutanées, musculaires et viscérales dans les couches I et V.

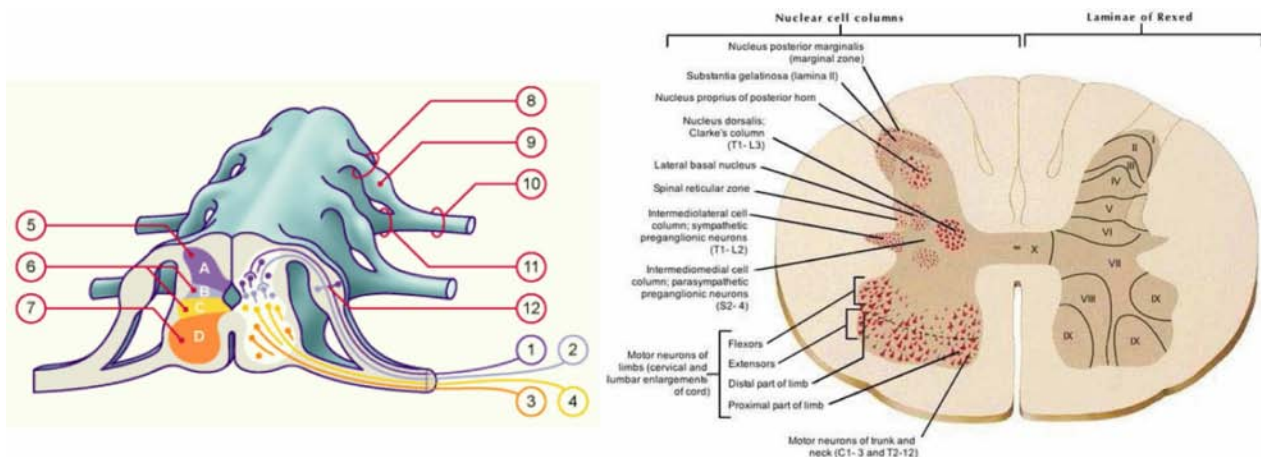


Figure 20. Organisation de la MEp et répartition des différents neurones dans les couches spinales. Gauche : 1, neurone sensitif somatique ; 2, neurone sensitif viscéral ; 3, neurone viscéral moteur ; 4, neurone somatique moteur ; 5, corne postérieure ; 6, corne latérale ; 7, corne antérieure ; 8, racine dorsale sensitive du nerf spinal ; 9, ganglion spinal ; 10, nerf spinal mixte ; 11, racine ventrale motrice du nerf spinal ; 12, neurone sensitif bipolaire ; A, zone somato- sensitive (inter- neurones) ; B, zone viscéro- sensitive (inter- neurones) ; C, zone viscéro- motrice (neurones moteurs) ; D, zone somato- motrice (neurones moteurs). Droite : couches (laminae) de Rexed.

C.I.1.b. Types de neurones spinaux

Les études électrophysiologiques ont permis de caractériser deux grandes classes de neurones à gamme de sensibilité différente aux stimuli douloureux dans les couches I et V : les neurones nociceptifs non spécifiques (NNS) et les neurones nociceptifs spécifiques (NS) (Guirimand and Le Bars, 1996).

Neurones nociceptifs non spécifiques

Les NNS sont également appelés neurones à convergence ou neurones à large gamme dynamique (wide dynamic range ou WDR). Leur repartition suit une organisation de type somatotopique avec des champs récepteurs cutanés. Les NNS codent l'intensité de la stimulation puisque leur fréquence de décharge augmente proportionnellement avec l'intensité du stimulus. Les NNS répondent à des stimuli polymodaux (mécanique, thermique et chimique) conduits par les fibres afférentes de type $A\beta$, $A\delta$ et C d'origines cutanée, musculaire et viscérale.

Neurones nociceptifs spécifiques

Les NS sont essentiellement localisés dans la lamina I de la MEp et ne sont innervés que par les fibres périphériques $A\delta$ et C dont les origines diverses peuvent expliquer le phénomène de convergence viscéro-somatique. Les NS répondent

exclusivement à un type donné de stimulus nociceptif (chimique, mécanique ou thermique). Leur champ récepteur est de petite taille. Ils n'ont aucune activité spontanée et s'activent pour des stimulations supra-liminaires en déchargeant de façon proportionnée à l'intensité de la stimulation.

C.I.1.c. Projections vers les neurones de troisième ordre

Les neurones sensoriels des GRD sont les premiers neurones du système sensoriel et sont appelés neurones de premier ordre. Les neurones spinaux sont les premiers neurones centraux à recevoir l'information nociceptive (première synapse centrale) par les fibres afférentes périphériques primaires (neurones de premier ordre) et sont dits de second ordre. Le message douloureux va ensuite être transmis au cortex par l'intermédiaire des structures supra-spinales (bulbe rachidien, tronc cérébral et thalamus) dans lesquelles s'effectue la deuxième synapse centrale avec les neurones centraux de troisième ordre.

Voies somatiques

La majeure partie des fibres des neurones nociceptifs projetant vers les structures supra-spinales croise la ligne médiane par la commissure grise antérieure et gagne le faisceau ascendant de Déjerine (faisceau spino-thalamique latéral) par le quadrant antéro-latéral contro-latéral (Figure 21). Les neurones nociceptifs de la corne dorsale de la MEp projettent vers trois sites principaux : le thalamus (faisceaux spino-thalamiques), la formation réticulée (faisceaux spino-réticulés) et la substance grise péri-aqueducatale (faisceaux spino-mésencéphaliques) (Purves et al., 2005).

Voies viscérales

Les messages viscéraux nociceptifs en provenance des viscères pelviens, abdominaux et thoraciques gagnent les centres supra-spinaux en passant non pas par le cordon antéro-latéral de la MEp (messages nociceptifs somatiques) mais par la voie des colonnes dorsales lemniscales médianes (Figure 21) pour se projeter sur le thalamus ventral postérieur (Willis et al., 1999).

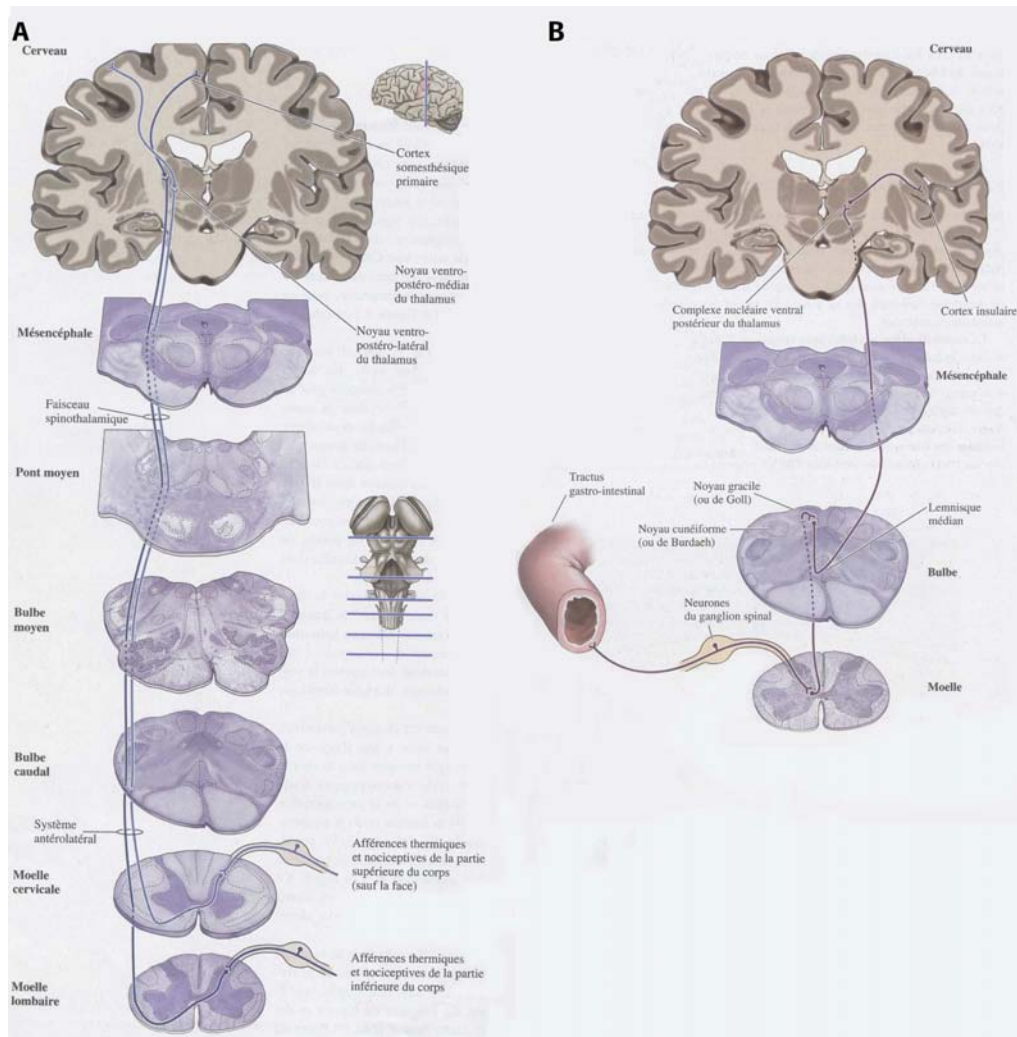


Figure 21. Voies nociceptives spinales ascendantes. Purves *et al.*, 2006, Neurosciences, De Boeck éditions. (A) Voies de la sensibilité thermique et nociceptive discriminative. (B) Voies de la douleur viscérale.

C.I.2. Premiers neurones centraux (de second ordre)

C.I.2.a. Définition

Dans la MEp, les afférences primaires font synapse avec trois types de neurones de second ordre : des neurones à projections supra-spinales, des neurones proprio-spinaux à projection spinale et des interneurones médullaires excitateurs ou inhibiteurs. Les projections vers les centres supérieurs assurent l'attribution des composantes émotionnelle, cognitive et sensorielle discriminative (nature, localisation, intensité et durée) de la douleur. Les projections spinales (homo- ou hétéro-segmentaires) assurent la coordination de réflexe médullaire à la stimulation nociceptive. Les interneurones participent aux mécanismes de contrôle nociceptif (anti-nociception spinale) ou

transmettent leurs informations vers les motoneurones qui génèrent les réflexes spinaux.

C.I.2.b. Neuro-médiateurs libérés dans la MEp

Le potentiel d'action (PA) généré par l'activation des fibres afférentes primaires suite à une stimulation nociceptive parvient au niveau de la première synapse située dans la MEp. Dans l'élément pré-synaptique, le PA provoque l'ouverture de canaux calciques dépendants du voltage entraînant une augmentation de la concentration cytosolique de calcium et la libération de neuro-médiateurs par exocytose des vésicules synaptiques. Les neuro-médiateurs peuvent être classés en deux catégories : les acides aminés excitateurs (glutamate, aspartate) qui sont les neuro-transmetteurs *stricto sensu* et les neuro-peptides (CGRP, SP, CCK, ocytocine, SST, NGF, BDNF, enképhalines, galanine, VIP, NPFF...) qui modulent leurs effets (Dickenson et al., 1997). Les neuro-transmetteurs libérés activent les récepteurs post-synaptiques des neurones spinaux et permettent la transmission du message douloureux.

C.I.2.c. Récepteurs pré-synaptiques

La quantité de neuro-médiateurs synaptiques libérés dépend de la concentration de calcium pré-synaptique dans les terminaisons des fibres afférentes primaires. Les récepteurs pré-synaptiques tels que les récepteurs "pro-nociceptifs" P2X (à l'ATP), 5-HT₃ (à la sérotonine) et EP (aux prostaglandines) et les récepteurs "anti-nociceptifs" GABA-B (au GABA), α 2-adrénérergiques (à la noradrénaline), 5-HT_{1A} et 1B (à la sérotonine) et opioïdérergiques μ , δ et κ modulent positivement et négativement, respectivement, cette concentration ce qui va favoriser ou inhiber la libération des neuro-médiateurs et neuro-modulateurs au niveau spinal (Julius and Basbaum, 2001).

C.I.2.d. Récepteurs post-synaptiques

Récepteurs glutamatergiques

Le glutamate est le neuro-médiateur clé de la transmission synaptique nociceptive et se lie à des récepteurs ionotropiques ou à des récepteurs métabotropiques (Bleakman

et al., 2006). Les récepteurs glutamatergiques ionotropiques sont subdivisés selon leurs ligands de synthèse en récepteurs au N-méthyl-D-aspartate (NMDA), au alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4 isoxalone propionate (AMPA), au kainate et au 2-amino-4-phosphonobutyrate (AP4). Les récepteurs ionotropiques AMPA/kainate ouvrent un canal sodique et les récepteurs ionotropiques NMDA ouvrent un canal calcique (Bleakman et al., 2006). Les récepteurs métabotropiques mGlu-R sont couplés aux protéines G. Ils peuvent moduler les cinétiques d'activation des récepteurs glutamatergiques ionotropiques. Les mGlu-R ont un rôle critique dans les mécanismes nociceptifs car ils initient les phénomènes de PLT et de "wind-up" responsables de l'hyper-excitabilité de la MEp (voir chapitre C.II.1). Le glutamate libéré dans la fente synaptique se fixe aussi sur des récepteurs pré-synaptiques pour favoriser sa propre libération ou être capturé par des transporteurs actifs situés sur les membranes de la terminaison et des astrocytes qui l'entourent et participer à la régulation métabolique de l'activité synaptique (Bleakman et al., 2006).

Autres récepteurs

Les récepteurs aux neuro-peptides (CGRP, SP, VIP, CCK...) augmentent l'excitabilité membranaire lors de leur activation. Par exemple, les récepteurs trkB peuvent activer le récepteur NMDA par l'intermédiaire de la PKC (Garraway et al., 2003; Slack et al., 2004).

Enfin, les canaux calciques voltage-dépendants de type N (Bourinet and Zamponi, 2005) et les canaux sodiques ASIC activés par les ions H⁺ relargués par les vésicules d'exocytose seraient fortement impliqués dans la transmission spinale du message nerveux (Bloodgood and Sabatini, 2008). En particulier, le canal ASIC1a participe aux courants spinaux évoqués par des stimulation nociceptives (Wu et al., 2004; Baron et al., 2008). De plus, un rôle lui a été proposé dans la PLT puisque ASIC1a, dans des situations de forte activité synaptique, contribuerait avec les canaux AMPA à l'activation du récepteur NMDA (Wemmie et al., 2002).

C.II. Sensibilisation centrale spinale

La sensibilisation centrale est un processus clé dans le développement de l'hyper-sensibilité persistante à la douleur. Au niveau somatique, la SP, la PGE2 et les récepteurs

5HT, AMPA et NMDA ont été largement impliqués dans le développement et le maintien de la sensibilisation au niveau de la MEp. L'état actuel des connaissances indique que les nocicepteurs du système gastro-intestinal ont une identité moléculaire similaire puisque des études expérimentales ont démontré que les récepteurs post-synaptiques NK (Gaudreau and Plourde, 2003), NMDA (Kolhekar and Gebhart, 1996), AMPA (Miranda et al., 2004) et 5HT (Gershon and Tack, 2007) ont un rôle dans la transmission de la douleur viscérale.

Les décharges répétitives de PA en provenance de la périphérie (comme c'est le cas avec la sensibilisation périphérique) renforcent les entrées nociceptives dans la corne dorsale de MEp. Cela conduit à des réponses amplifiées aux stimuli de type douloureux (hyperalgie) mais aussi aux stimuli non douloureux (allodynie) (Anand et al., 2007) en raison d'une facilitation des mécanismes excitateurs et d'un affaiblissement des mécanismes inhibiteurs (Woolf, 2007). Ces mécanismes sont sous la dépendance de phénomènes neuro-plastiques.

C.II.1. Neuro-plasticité

Potentialisation à long terme

Le renforcement synaptique rend compte de l'hyper-excitabilité médullaire dans les états d'hyper-sensibilisation et de chronicisation de la douleur. En effet, les entrées nociceptives répétées génèrent des changements transcriptionnels dépendant de l'activité dans les neurones sensoriels et les neurones spinaux (Ji and Woolf, 2001). Ces changements vont permettre d'améliorer sur le long terme la communication entre deux neurones activés simultanément en augmentant l'efficacité de la transmission synaptique, par exemple en permettant la libération de neuro-transmetteurs excitateurs en réponse à un PA pré-synaptique infra-liminaire. C'est ce qu'on appelle la potentialisation à long terme (PLT).

Le mécanisme de la PLT implique également les récepteurs post-synaptiques AMPA et NMDA (Figure 22). Schématiquement, l'activation simultanée répétée de plusieurs éléments pré-synaptiques conduit à une libération massive de glutamate à la synapse. L'activation des récepteurs AMPA est alors suffisante pour modifier les propriétés des récepteurs NMDA, qui sont inactifs lorsque la concentration de glutamate dans la synapse est faible, et les rendre activables. L'activation des récepteurs NMDA

aboutit à l'entrée de calcium dans la cellule. De plus, les récepteurs mGlu-R post-synaptiques participent à ce processus par l'intermédiaire des protéines G qui activent des cascades enzymatiques intra-cellulaires et conduisent à la sensibilisation des récepteurs NMDA ainsi qu'à la mobilisation des réserves calciques intra-cellulaires contenues dans le réticulum endoplasmique. La modification de la cinétique d'activation du NMDA concourt à augmenter la réponse neuronale au glutamate et rend la cellule capable de s'activer pour des stimulations auparavant infra-liminaires (Woolf and Thompson, 1991; Yaksh et al., 1999; Woolf and Salter, 2000). La forte concentration de calcium intra-cellulaire active les protéines dépendantes du calcium médiatisant des changements d'expression génique dans l'élément post-synaptique (Kawasaki et al., 2004; Weiss and De Waard, 2006). De même, le NO produit par la NOS (NO synthase) peut diffuser jusqu'aux éléments pré-synaptiques où il augmente la libération des vésicules synaptiques et jusqu'aux cellules gliales et au noyau du neurone où il contribue à modifier l'expression génique (Feil and Kleppisch, 2008). La modification des profils d'expression génique pré- et post-synaptique conduit, sur plusieurs heures, à un switch phénotypique caractérisé par une augmentation de la production et de la libération des neuro-transmetteurs et neuro-médiateurs pré-synaptiques (glutamate, SP, BDNF...) et par une augmentation de l'expression des récepteurs post-synaptiques correspondants (NMDA, AMPA, NK, trk...) (Takahashi, 2005). La PLT assure ainsi l'amplification de la transmission synaptique suite à un historique de stimulations répétées.

La PLT modifie les caractéristiques des réponses à un stimulus normal, par exemple en provoquant une réponse nociceptive à un stimulus tactile non-nociceptif (allodynie). Les fibres sensorielles à bas seuil activées par des stimuli non nociceptifs sont désormais capables d'activer des neurones spinaux nociceptifs à haut seuil, contribuant à une réduction des seuils douloureux.

Bien que la douleur se réfère à la périphérie, elle émerge du SNC. Cette facilitation centrale se manifeste en quelques secondes d'une stimulation conditionnante nociceptive appropriée et peut se maintenir après la stimulation pendant plusieurs heures (Woolf and Wall, 1986; Yaksh et al., 1999). Si le stimulus se maintient même à de bas niveaux, la sensibilisation centrale persiste.

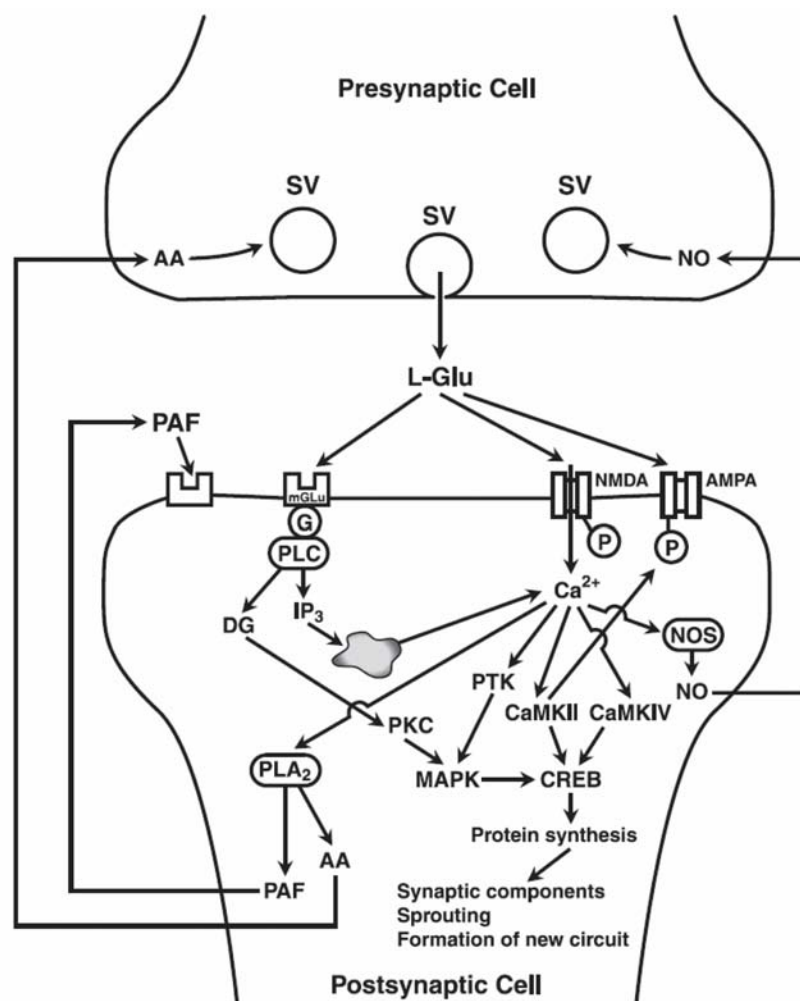


Figure 22. Mécanismes moléculaires de la PLT. D'après Miyamoto., 2006. Tout comme le wind-up, la PLT se met en place suite à l'activation répétée d'un même neurone. Les mécanismes impliquent également le «déblocage» des canaux NMDA-R, une forte dépolarisation membranaire et l'afflux massif de Ca^{2+} dans le cytoplasme. Cependant, la PLT se caractérise par l'activation des kinases dépendantes du Ca^{2+} CaMKII qui vont phosphoryler le facteur de transcription CREB et provoquer la synthèse de gènes tardifs nécessaires à l'établissement d'une facilitation synaptique à long terme. SV, vésicule synaptique ; PAF, platelet-activating factor ; G, GTP-binding protein ; PLC, phospholipase C ; CaMKII, CaM kinase II ; CaMKIV, CaM kinase IV ; PTK, phosphotyrosine kinase ; NOS, nitric oxide synthase ; TF, transcription factor ; AA, acide arachidonique.

Nocicepteurs silencieux

La sensibilisation centrale est aussi caractérisée par le recrutement de nocicepteurs préalablement silencieux qui s'accompagne d'une extension des champs récepteurs dans la MEp. De plus, elle induit une hyper-sensibilité dans des zones (somatiques et viscérales) qui sont éloignées du site de la sensibilisation périphérique (hyperalgie secondaire). Au niveau du tractus gastro-intestinal, cette convergence viscéro-somatique, mise en évidence expérimentalement dans l'œsophage après sensibilisation par l'acide (Garrison et al., 1992), implique les récepteurs NMDA (Kolhekar and Gebhart, 1996; Banerjee et al., 2009). La nature de ces nocicepteurs silencieux reste inconnue. Il a été

proposé que certaines afférences vagales spécifiques, capables d'émettre des décharges continues hors de la gamme physiologique et nommées "afférences à large sensibilité dynamique" pourraient jouer ce rôle (Ozaki et al., 1999). Ces afférences, comme presque toutes les afférences vagales innervant le tractus gastro-intestinal, sont des fibres à bas seuil d'activation (Ozaki et al., 1999). Malgré cette propriété, elles pourraient avoir un rôle dans la nociception viscérale car elles peuvent être activées par des médiateurs inflammatoires ce qui en fait des chimio-nocicepteurs latents dans les états pathologiques (Lennerz et al., 2007).

Chez l'homme, l'existence d'une hyperalgie secondaire aux douleurs abdominales aiguës ou chroniques dans les TFI a été démontrée en testant les dermatomes appropriés (Bouin et al., 2001; Drewes et al., 2006).

C.II.2. Hyper-excitabilité spinale dans les MICI et le SII

A notre connaissance, il n'existe aucune étude sur la sensibilisation spinale dans les MICI. Cependant, la cinétique de ré-apparition des douleurs abdominales chez les patients en rechute plaide en faveur de la ré-activation de voies nociceptives centrales sensibilisées et des études récentes ont mis en évidence l'implication spinale des récepteurs NMDA (Zhou et al., 2009) et des récepteurs NK1 (Greenwood-Van Meerveld et al., 2003; Palecek et al., 2003) dans des modèles pré-cliniques de MICI.

Une hyper-excitabilité de la MEp en réponse aux stimulations nociceptives a été montrée chez les patients atteints de SII par l'analyse de l'effet de la distension colorectale sur des enregistrements électromyographiques du réflexe de flexion somatique nociceptive (RIII) (Coffin et al., 2004). L'HSV dans le SII est sous dépendance d'un mécanisme segmentaire localisé au sein de la MEp lombo-sacrée (Verne et al., 2001) qui a été confirmé par la mise en évidence d'une sur-expression du marqueur d'activité neuronale Fos dans des modèles animaux de SII induit par le stress (Stam et al., 2002; Chung et al., 2007).

Au niveau mécanistique, le phénomène de PLT est vraisemblablement impliqué dans la sensibilisation centrale aux stimuli viscéraux (Figure 23).

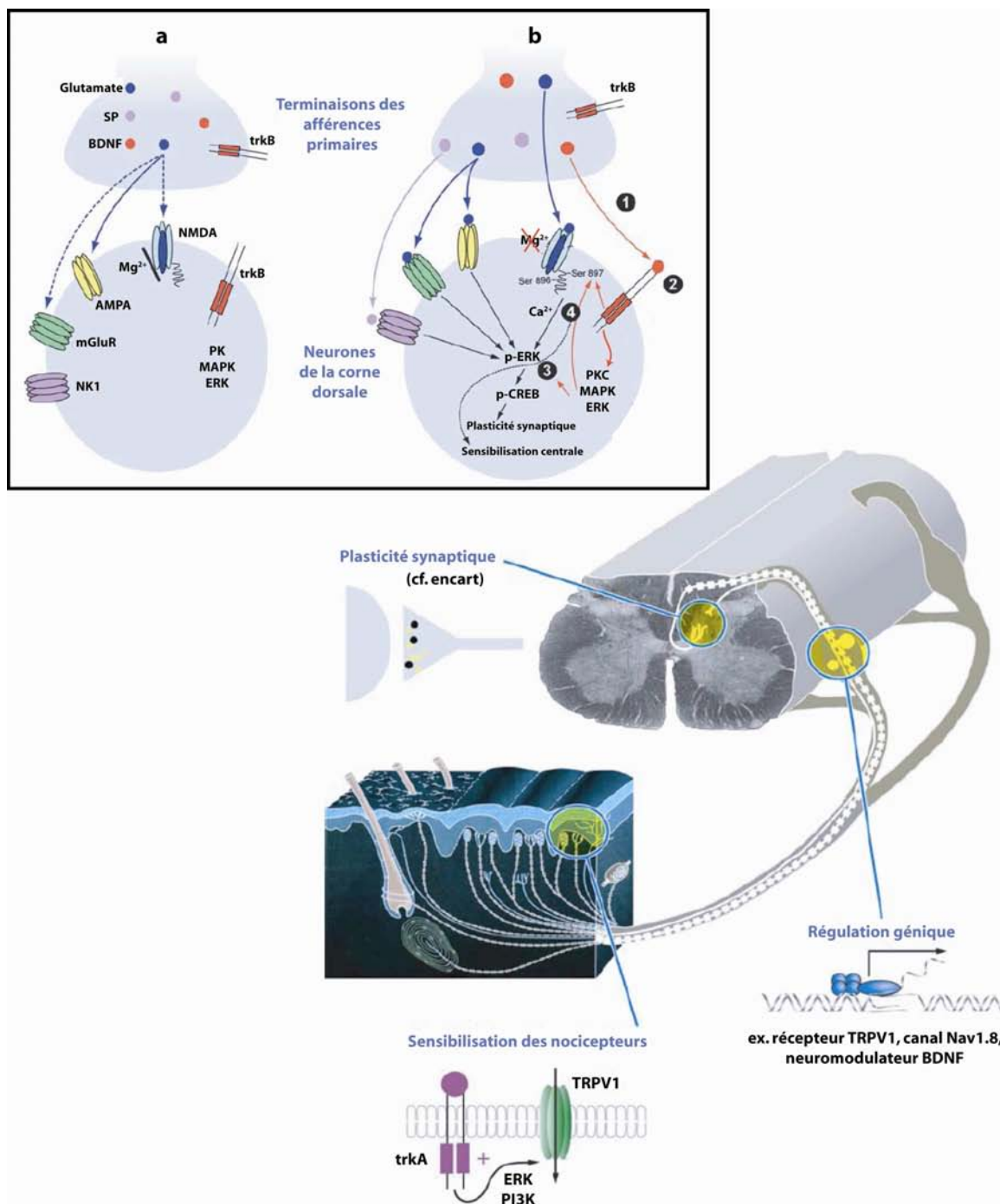
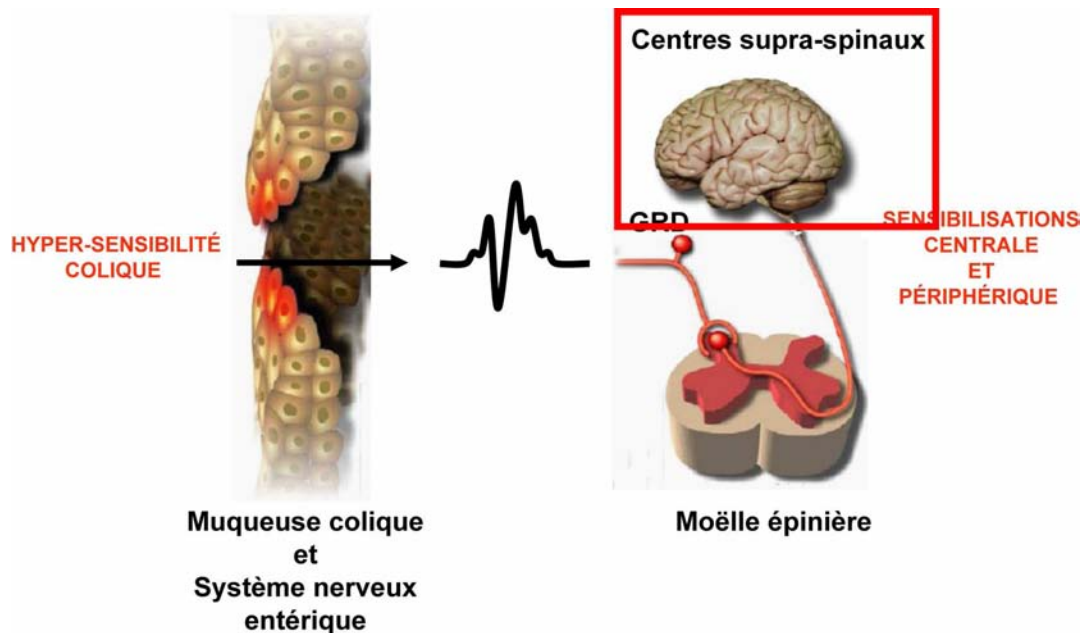


Figure 23. Mécanismes de sensibilisation à la synapse formée par les terminaisons des afférences primaires et les neurones spinaux. D'après Pezet & McMahon, 2006. (a) Conditions normales. (b) Sensibilisation. (1) La libération centrale de BDNF après l'activation périphérique des nocicepteurs active (2) son récepteur trkB. L'activation de la voie MAPK par la PLC conduit à la synthèse de gènes de la neuroplasticité (3) et à la phosphorylation du NMDA-R (4). CREB, cAMP responsive element binding protein; PKC, protein kinase C; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; ERK, extracellular-signal regulated kinase; PI3K, phosphatidyl inositide-3 kinase; trkA, tropomyosine receptor kinase A; TRPV1, vanilloid receptor 1.

L'HSV observée chez les patients atteints de MICI et de SII est vraisemblablement dépendante de mécanismes spinaux d'hyper-excitabilité centrale. Cette hypothèse nécessite néanmoins une confirmation directe par l'évaluation de l'excitabilité de la MEp

chez les patients avec un SII. L'HSV ne résulte pas uniquement d'une sensibilisation des afférences primaires viscérales puisqu'au niveau du SNC, elle pourrait être entretenue par plusieurs facteurs tels que des entrées toniques en provenance des afférences nociceptives viscérales, des altérations dans les contrôles descendants et les modulations inhibitrices et/ou un phénomène de facilitation de la douleur par des facteurs cognitifs. Le Chapitre 2.D. propose une vue d'ensemble des mécanismes pouvant moduler les douleurs d'origine gastro-intestinale.

D. Influences modulatrices de la nociception viscérale



Il existe plusieurs dimensions de la réponse individuelle à un stimulus nociceptif : (1) les dimensions sensorielles et affectives de la perception ; (2) les réponses cognitives d'évaluation de la menace liée à la blessure ; (3) les réponses physiologiques périphériques (autonome, neuro-endocrine) ; et (4) les réponses comportementales. La dimension sensorielle de la douleur est prise en charge par le système nerveux périphérique et la MEp qui transmettent le message douloureux et ses caractéristiques (localisation, intensité, durée...) vers le tronc cérébral et le cerveau (voies ascendantes spino-mésencéphaliques et spino-thalamo-corticales). Dans ces centres supérieurs, le message douloureux est intégré en fonction des contextes physiologique, cognitif et émotionnel. Suite à ce traitement multi-modal, l'intensité de la réponse à la douleur est

alors modulée par la re-définition de l'équilibre entre les processus facilitateurs et inhibiteurs descendants de la transmission nociceptive périphérique (système nerveux végétatif) et spinale (voies cortico-ponto-spinales).

Ces effets modulateurs cérébraux peuvent être amplifiés par des processus cognitifs (système limbique et cortex). De plus, ils peuvent également subir l'influence des hormones (axe hypothalamo-hypophysaire et organes sexuels). La douleur viscérale, tout comme la douleur somatique, peut être modulée par ces influences. Ce dernier chapitre a ainsi pour but de présenter les principales influences modulatrices de la nociception dans le tractus gastro-intestinal et ayant pour origine les structures supra-spinales, le SNA, l'axe hypothalamo-hypophysaire et le système endocrinien des organes sexuels.

D.I. Structures supra-spinales

Les informations sensorielles gastro-intestinales sont transmises au cerveau par les nerfs vagues et spinaux afférents à différents niveaux (Figure 24) : bulbe rachidien (formation réticulée, locus coeruleus, noyau raphé, rostro-ventral medulla), pont (formation réticulée, noyau para-brachial), mésencéphale (substance grise péri-aqueducale, noyau du tractus solitaire), hypothalamus, thalamus, système limbique et cortex qui en retour contrôlent la nociception viscérale.

D.I.1. Voies ascendantes de la douleur

D.I.1.a. Afférences vagues

Les afférences vagues projettent sur le noyau du tractus solitaire qui projette ensuite sur le thalamus, principalement le noyau para-brachial, et sur des régions régulant les réponses réactionnelles et émotionnelles incluant l'hypothalamus, le locus coeruleus (LC), l'amygdale (AMG) et la substance grise péri-aqueducale (PAG). Du thalamus, les signaux sensoriels gastro-intestinaux sont relayés aux zones corticales gérant les informations viscérales (Jones et al., 2006; Anand et al., 2007).

D.I.1.b. Afférences spinales

Les neurones centraux de second ordre de la MEp projettent vers le cerveau par les voies spino-réticulaire, spino-mésencéphalique, spino-hypothalamique et spino-thalamique activant respectivement la formation réticulée, la PAG, l'hypothalamus et le thalamus (Figure 24). Les réponses générées sont pour la plupart inconscientes et/ou autonomes (éveil, orientation, réponses autonomes, prototypiques émotionnelles et comportementales) et jouent un rôle primordial dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme. Cependant, la voie spino-thalamique projette dans les noyaux ventro-postérieur, médio-dorsal et ventro-médian postérieur du thalamus sensoriel d'où l'information est respectivement relayée aux cortices somato-sensoriels SI et SII (système nociceptif latéral), au cortex cingulaire antérieur (système nociceptif médian) et au cortex insulaire où des traitements conscients plus complexes interviennent (Almeida et al., 2004; Anand et al., 2007).

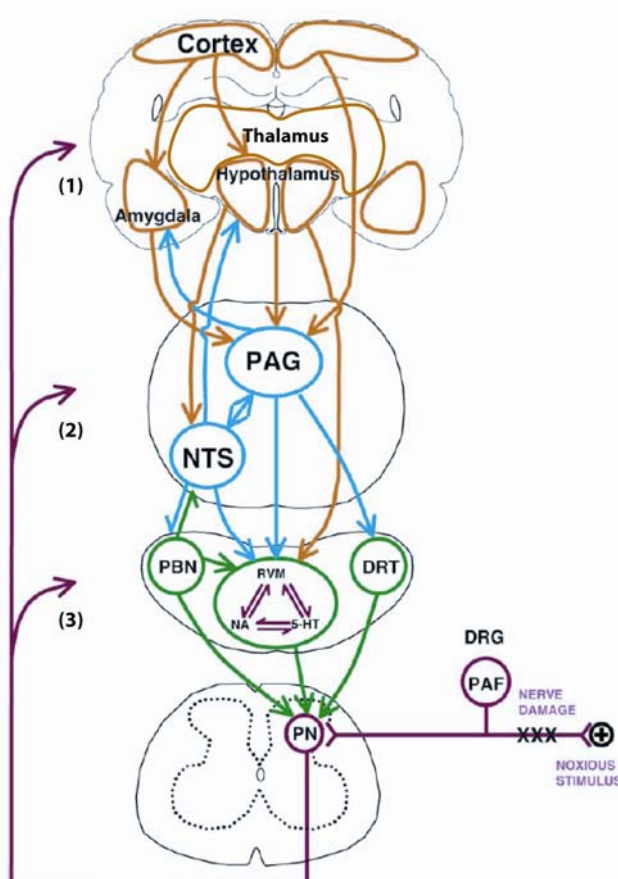


Figure 24. Représentation schématique des interactions entre structures nociceptives supra-spinales. Adapté de Millan, 2002. DRG : ganglion des racines dorsales ; DRT : noyau dorso-réticulaire ; PAF : fibres afférentes primaires ; NA : noradrénaline (locus coeruleus) ; PN: Neurone de projection ; PBN : noyau parabrachial ; 5HT : sérotonine (noyau raphé magnus) ; NTS : noyau du tractus solitaire ; RVM : médulla rostroventrale ; PAG : substance grise périaqueducale. (1) Voies spino-thalamique et spino-hypothalamique ; (2) Voie spino-mésencéphalique ; (3) Voie spino-bulbaire.

D.I.2. Voies descendantes modulant la douleur

Les structures supra-spinales participant au contrôle de la douleur sont organisées anatomiquement autour d'un élément central : la PAG située dans le mésencéphale (Figure 24).

La PAG est la structure clé de la régulation de la douleur. Elle a un rôle pivot dans la modulation des processus anti-nociceptifs car elle reçoit des efférences nociceptives de la MEp et est inter-connectée avec les autres centres modulant la douleur viscérale : l'hypothalamus, le noyau para-brachial (PBN), le noyau du tractus solitaire (NTS) et les structures cortico-limbiques (Giesler, 1995; Brandao et al., 1999; Gamboa-Esteves et al., 2001; Odeh and Antal, 2001; Zagon, 2001). De plus, la PAG module les contrôles descendants via la medulla rostro-ventrale (RVM) et le noyau noradrénergique A7 du bulbe rachidien (Cameron et al., 1995b; Cameron et al., 1995a; Bajic et al., 2001; Kirifides et al., 2001). Ce réseau est impliqué dans le traitement des dimensions affective et cognitive de la douleur. Il coordonne et module les informations autonomes et sensorielles somatiques et viscérales (Mason, 1999; Yaksh, 1999; Millan, 2002).

Enfin, le noyau réticulaire dorsal (formation réticulée du bulbe rachidien) forme une boucle spino-réticulo-spinale avec la MEp dont il module les messages nociceptifs somatiques et viscéraux (Cervero et al., 1985; Tavares and Lima, 1994; Almeida et al., 2004). C'est une voie excitatrice capable d'activer le système anti-nociceptif descendant sur la MEp via le noyau raphe magnus et d'activer les réponses d'éveil et d'émotion via le SNA, en particulier dans la douleur viscérale (Zhuo and Gebhart, 2002; Robbins et al., 2005; Sanoja et al., 2009). Cet action anti-nociceptive pourrait dépendre de la mise en oeuvre des contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs (CIDN) (Bouhassira et al., 1992).

D.I.3. Structures cortico-limbiques

La dimension cognitivo-émotionnelle de la douleur affecte l'expérience douloureuse et la prise en charge thérapeutique. Il est désormais admis que les structures cortico-limbiques ont un rôle non seulement discriminatif mais aussi actif dans la nociception (Fields, 2000; Hofbauer et al., 2001; Johansen et al., 2001).

Le cortex insulaire (ou insula) est appelé "cortex intéroceptif" car toutes les informations concernant l'état interne de l'organisme y sont traitées (Critchley et al., 2004).

L'insula est en relation avec la PAG et intègre les informations viscérales sensorielles et émotionnelles en liaison avec les centres contrôlant les réponses autonomes viscéro-motrices. De même que l'insula, les cortices somato-sensoriels SI-SII (dimension sensori-discriminative de la douleur) et le cortex orbito-pré-frontal (informations sensorielles en relation avec la nourriture et l'ingestion) sont impliqués dans la modulation de la douleur viscérale (Burkey et al., 1999; Kuroda et al., 2001; Petrovic et al., 2002).

Au sein du système limbique, l'ACC (anterior cingulate cortex) traite et module les informations afférentes viscérales et somatiques (Dunckley et al., 2005) et fournit des modulations descendantes par ces projections sur l'AMG et la PAG. Il joue un rôle important dans la douleur viscérale en participant à l'élaboration des réponses autonomes, comportementales et anti-nociceptives descendantes à la douleur (Critchley et al., 2004; Rapps et al., 2008). D'autre part, il est aussi impliqué dans les réponses d'anticipation et d'attention aux stimuli aversifs (Phan et al., 2004). Enfin, l'amygdale peut renforcer le "poids" émotionnel attribué à la sensation viscérale en provenance des cortices SI-SII et intensifier le message nociceptif par des efférences descendantes excitatrices se projetant sur la corne dorsale de la MEp via la PAG et les noyaux du tronc cérébral (Monnikes et al., 2001; Millan, 2002; Anand et al., 2007).

D.I.4. Régulation supra-spinale de la douleur viscérale

D.I.4.a. Inhibition endogène de la douleur

Tout le long des voies descendantes modulatrices, du cortex (ACC) à la MEp dorsale en passant par la RVM et la PAG, les opioïdes endogènes, de concert avec la sérotonine et la noradrénaline, ont un effet tonique inhibiteur des neurones spinaux (Fields, 2004).

L'hyper-excitabilité médullaire peut aussi être réduite par l'activation des CIDN qui sont activés par des messages nociceptifs concomitants et se traduisent par une atténuation du phénomène de wind-up dans la douleur somatique (Le Bars and Adam, 2002) et par le phénomène de contre-irritation dans la douleur viscérale (Calvino et al., 1984). Certains patients atteints de SII présente une anomalie de la modulation endogène de la douleur et une hyper-sensibilité somatique (Wilder-Smith and Robert-Yap, 2007). Une altération de la balance entre les entrées facilitatrices et inhibitrices consécutive à un

stress central ou une inflammation périphérique pourrait causer une perception accrue de la douleur viscérale (Mertz, 2002). Actuellement, l'imagerie cérébrale n'a fourni que des preuves indirectes de l'implication des voies cérébrales dans la génération des symptômes et les méthodes d'étude de la MEP en clinique restent limitées. Il semble cependant que les CIDN pourraient être altérés dans le SII (Wilder-Smith et al., 2004; King et al., 2009).

D.I.4.b. Processus cognitifs

Le SNC fonctionne comme un filtre des signaux afférents périphériques et les seuils de perception peuvent varier selon les états émotionnel et cognitif de l'individu. La plupart des signaux viscéraux atteignent le thalamus et le tronc cérébral et seulement quelques-uns parviennent au cortex où ils sont perçus consciemment. Une étude suggère néanmoins que les signaux de faible intensité sont enregistrés de façon subliminale (Naliboff and Mayer, 2006) et peuvent influencer sur les processus cognitifs modulant la douleur ressentie. Le stress, l'anxiété ou le souvenir d'événements aversifs augmente la perception des événements douloureux alors que la distraction, l'hypnose et la relaxation diminue cette sensibilité en faisant intervenir le système émotionnel moteur (LeDoux, 2003).

Ainsi, il apparaît que dans le SII, la perception viscérale est plus fine chez certains patients qui mettent en œuvre des processus d'hyper-vigilance (état d'éveil et d'alerte accru). Les patients présentant des TFI sont hyper-vigilants aux sensations intestinales avec une perception sélective de messages viscéraux normalement infra-liminaire (Naliboff et al., 2006). L'anticipation de la douleur est un autre phénomène qui peut expliquer les réponses plus précoces des malades de SII dans le test de DCR (Naliboff et al., 2006; Berman et al., 2008).

D.II. Stress

L'historique d'enfance malheureuse, d'abus sexuels ou d'événements de vie associés à des stress intenses est corrélé au risque de développer un TFI (Drossman, 1999). Dans un échantillon de patients atteints de SII et ayant subi des abus physiques et/ou sexuels, les seuils de douleur à la distension rectale sont diminués et corrélés à

l'activation des structures limbiques (Ringel et al., 2008). Ces données montrent qu'il existe, chez les patients avec un TFI, une vulnérabilité au stress (hyper-réactivité limbique) probablement de survenue précoce. D'ailleurs, les patients avec un SII rapportent souvent un stress chronique (Bennett et al., 1998) et/ou un stress aigu précédant le déclenchement de la maladie (Creed, 1999).

D.II.1. Effets du stress sur l'axe HPA

L'axe hypothalamo-adréno-hypophysaire (ou HPA pour hypothalamic-pituitary-adrenal axis) est un ensemble complexe d'influences directes et d'interactions régulatrices entre l'hypothalamus (noyau paraventriculaire), l'hypophyse (ou glande pituitaire) et les glandes cortico-surrénales (Figure 25). L'axe HPA constitue un système neuro-endocrine de contrôle des réactions au stress et régule de nombreuses fonctions physiologiques (digestion, immunité, humeur et émotions, sexualité, homéostasie énergétique).

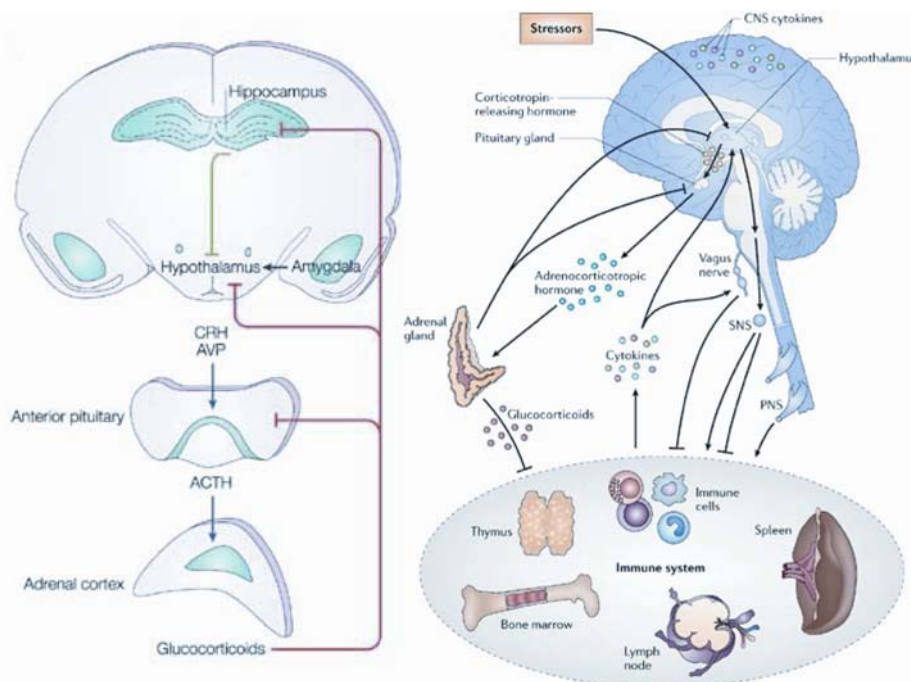


Figure 25. Axe hypothalamo-adréno-pituitaire. D'après Sandi 2006 et Sternberg 2006. Les neurones neuro-endocrines hypothalamiques synthétisent la vasopressine et la CRH qui stimulent la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse. L'ACTH active la production de glucocorticoïdes (cortisol) par les cortico-surrénales. Les glucocorticoïdes exercent un rétro-contrôle négatif sur la production de CRH et d'ACTH. L'axe HPA subit les influences intégratrices du cortex préfrontal, de l'amygdale (AMG), de l'hippocampe et de la substance grise péri-aqueducule en connexion avec l'hypothalamus et les influences inhibitrices des projections ascendantes mono-aminergiques des noyaux ponto-mésencéphaliques sérotoninergique (noyau raphe) et noradrénergique (locus coeruleus). Dans ce circuit, la CRH est le neuro-médiateur clé puisqu'il est exprimé dans l'hypothalamus, l'AMG et le locus coeruleus et est rétro-contrôlé positivement par les voies noradrénergiques. CRH, corticotropin releasing hormone ; AVP, arginin vasopressin ; ACTH, adrenocorticotrophic hormone ou corticotropine ; CNS, système nerveux (SN) central ; PNS, SN périphérique ; SNS, SN sympathique.

Le stress exerce un rôle majeur sur la physiologie humaine à court, moyen et long terme. Il est caractérisé par une augmentation de la synthèse et de la sécrétion de CRH (Ladd et al., 2000), une sur-activité du système noradrénergique (Sapolsky et al., 1984; Southwick et al., 2002) et une sous-régulation des récepteurs gluco-corticoïdes (Arborelius et al., 1999; Ladd et al., 2004). Cette plasticité du système moteur émotionnel participe à l'amplification de la réponse de l'axe HPA au stress (Ladd et al., 2000). Ainsi, le stress pathologique peut non seulement activer mais aussi changer fondamentalement la réactivité et les sorties des circuits centraux du stress (Meaney et al., 1996). La conséquence de ces modifications des circuits centraux est la mise en place de changements secondaires dans les systèmes de récepteurs spinaux ou dans les cellules cibles périphériques établissant ainsi les conditions pour la sensibilisation centrale et périphérique (Mayer and Collins, 2002).

Les études animales ont montré que la réactivité des systèmes physiologiques et la capacité d'adaptation sont perturbées par les événements de vie négatifs précoces ce qui accroît la vulnérabilité de l'organisme aux effets du stress dans la vie adulte mais aussi à certains types de stress pathologiques comme le stress post-traumatique. Par exemple, un environnement familial pourvoyeur de stress (distance affective, violence, décès, abus) à un jeune âge (<10ans) est associé à une grande vulnérabilité au stress à l'âge adulte (Canetti et al., 1997) mais aussi à des maladies chroniques comme le SII (Drossman et al., 1996b). Les études chez les rongeurs et les primates non humains montrent que la privation maternelle dans l'enfance est associée à une augmentation de l'expression neurale du gène CRH et à une réactivité accrue au stress (Bakshi and Kalin, 2000; Caldji et al., 2000). Une fois adulte, les animaux ayant été soumis à des stress précoces montrent une sur-activation de l'axe HPA, une sur-activation des systèmes sympatho-adrénergiques médullaires et mono-aminergiques centraux et une grande vulnérabilité aux maladies induites par le stress (Coplan et al., 1996).

D.II.2. Effets du stress sur la sensibilité viscérale

Dans le cadre des douleurs viscérales, les études chez le rat ont montré que les événements de vie négatifs précoces (irritation colique néo-natale mécanique ou chimique ; séparation maternelle durant la vie néo-natale) provoquent le développement d'une HSV chronique (Al-Chaer et al., 2000) et induisent des troubles de la motilité intestinale

(Coutinho et al., 2002) à l'âge adulte. Ces altérations peuvent être mimées par l'administration intra-cérébro-ventriculaire de CRH et peuvent être bloquées par un antagoniste de la CRH (Larauche et al., 2008). De même, le stress ou l'administration centrale ou systémique de CRH augmente le nombre de crampes abdominales en réponse à la DCR chez le rat, sans changer la compliance rectale (Gue et al., 1997). Le stress pathologique pourrait donc contribuer à l'étiologie des TFI par l'intermédiaire de la CRH. Chez l'homme, l'administration intra-veineuse de CRH provoque en effet l'hyper-sensibilisation viscérale (Nozu and Kudaira, 2006). L'usage d'antagonistes de la CRH prévient ses effets délétères sur la sensibilité viscérale. A l'inverse, ils sont potentialisés par l'administration de doxantrazole, un stabilisateur mastocytaire (Barreau et al., 2007). Il semble donc que les médiateurs mastocytaires libérés en réponse à la CRH pourraient être les effecteurs moléculaires du stress au niveau intestinal en conduisant au développement de troubles sensitifs (Castagliuolo et al., 1996). En particulier, le NGF pourrait intervenir puisqu'il est requis pour le développement de l'HSV et de la perméabilisation intestinale chez les rats adultes ayant vécu une séparation maternelle (Barreau et al., 2007). Ces résultats sont à mettre en perspective avec les données rapportant une forte expression de NGF et une forte concentration mastocytaire dans la muqueuse colique des patients atteints de TFI (*cf.* Chapitre B.II.2.b).

En ce qui concerne le SII, l'état de stress des patients est corrélé aux symptômes, par exemple à des changements de transit ou de consistance des selles (Mayer et al., 2001). Des preuves de la dérégulation de l'axe HPA ont d'abord été apportées chez les patients atteints de SII-D qui présentent des taux de cortisol plasmatique bas et une libération de cortisol faible et une libération d'ACTH normale en réponse à des DCR nociceptives (Posserud et al., 2004). A l'inverse, les taux de cortisol urinaire sont augmentés dans un sous-groupe de femmes atteintes de SII (Heitkemper et al., 1996). Les dernières études décrivent une hyper-réactivité de l'axe HPA en réponse à l'injection de CRH chez les patients SII (Dinan et al., 2006; Chang et al., 2009). Ces données signalent un défaut de régulation des récepteurs aux gluco-corticoïdes et donc potentiellement une altération du rétro-contrôle gluco-corticoïdérique (Mayer and Collins, 2002).

Jusqu'à présent, très peu d'équipes ont étudié la contribution du stress psychologique à l'ontogenèse des MICI. Le stress psychologique est capable d'exacerber l'inflammation (Elenkov and Chrousos, 2006), en particulier dans la RCH (Mawdsley and Rampton, 2006; Maunder and Levenstein, 2008). Le mécanisme impliqué pourrait être

une diminution de la production de gluco-corticoïdes résultant d'une dérégulation de l'axe HPA. Comme les gluco-corticoïdes sont anti-inflammatoires, on peut spéculer qu'un taux de cortisol inadéquat est responsable des altérations dans la muqueuse même après éradication de l'agent infectieux.

En addition de ces altérations de l'axe HPA, il est à noter que de plus en plus d'études rapportent une implication du SNA dans les états douloureux viscéraux (Randich and Gebhart, 1992; Diop et al., 1994; Schott, 1994). L'implication du SNA serait étroitement liée à celle de l'axe HPA aussi bien dans le SII (Aggarwal et al., 1994; Tougas, 2000; Heitkemper et al., 2001) que dans les MICI (Lindgren et al., 1993; Taylor and Keely, 2007), probablement par l'intermédiaire de la CRH. Les données actuelles indiquent que certains patients atteints de MICI et de SII présentent une hyper-activation ortho-sympathique résultant d'une hypo-activité du nerf vague et de la stimulation du SNA par le stress (Furlan et al., 2006; Spaziani et al., 2008; Sharma et al., 2009). Ces altérations augmentent la perception intestinale à la distension (Iovino et al., 1995) et favoriseraient l'emballement de l'inflammation dans les MICI et le dérèglement des réponses motiles coliques dans le SII.

D.III. Influence des hormones sexuelles sur l'HSV

Les données épidémiologiques indiquent que, en comparaison avec les hommes, les femmes sont sur-représentées dans de nombreux syndromes douloureux chroniques n'affectant pas les organes sexuels comme la fibromyalgie, la migraine et les TFI (Unruh, 1996). Ces différences liées au sexe sont bien décrites pour la douleur somatique (pression et électricité) (Unruh, 1996; Berkley, 1997; Barsky et al., 2001) mais sont aussi observées pour la douleur viscérale dans des tests de distension de l'œsophage (Nguyen et al., 1995) ou de l'estomac (Mearadji et al., 2001).

D.III.1.a. Douleurs chroniques coliques

Dans les maladies impliquant les viscères, la douleur est souvent liée aux mouvements intestinaux. Comme le temps de transit et les fonctions des sphincters peuvent être altérés par les hormones sexuelles (Hinds et al., 1989; Heitkemper and Jarrett, 1992), celles-ci modulent très probablement la douleur viscérale. L'influence des

hormones sexuelles pourrait donc expliquer pourquoi les douleurs chroniques viscérales sont deux à quatre fois plus fréquentes chez les femmes que chez les hommes. Chez le rat, l'influence du cycle menstruel est bien établie dans la douleur viscérale puisque les réponses sensorielles enregistrées pendant le test de DCR sont obtenues pour des seuils plus bas pendant la phase de proestrus (Holdcroft et al., 2000). Dans la même étude, les réponses viscéro-motrices des femelles sont également plus grandes. Dans un modèle de calcul urétéral artificiel, la sensibilité à la douleur urétérale chez la ratte est accentuée pendant les phases de metestrus/diestrus (Giamberardino et al., 1997). Les études animales suggèrent donc que la phase du cycle menstruel conditionnerait la sensibilité à la douleur chez la femelle.

Dans les MICI, bien qu'il n'y ait pas de prédominance sexuelle nette, il semble que les femmes soient plus atteintes lorsque les études cliniques se focalisent sur les cas familiaux (Baumgart and Sandborn, 2007). La comparaison des cas de MICI sporadiques et familiaux a montré qu'il existe une prépondérance féminine parmi les cas familiaux. Le ratio femme/homme est alors compris entre 1,23 et 1,68 pour la MC familiale (Peeters et al., 1996). Pendant la période pré-menstruelle, 93% des femmes rapportent une exacerbation des symptômes associés aux MICI (la plupart avec une MC) (Okoro and Kane, 2009). De façon très intéressante, l'émergence des MC pédiatriques est plutôt à prépondérance masculine ce qui pourrait laisser supposer que l'influence des hormones à la puberté renverse cette tendance. Dans la RCH en revanche, il n'existe pas de prépondérance liée au sexe.

La prédominance de SII chez la femme est très clairement établie par un ratio femme/homme de 2 à 3 selon les études. Les femmes sont également plus exposées aux maladies co-morbides du SII comme la fibromyalgie, la migraine, les symptômes rhumatologiques, les douleurs pelviques chroniques et les troubles urinaires (Walker et al., 1996) mais surtout il existe une forte corrélation entre SII et dysménorrhée (Altman et al., 2006). Les études cliniques dans l'ensemble ont échoué à montrer des différences de genre dans les seuils perceptifs à la distension du rectum chez les patients avec un SII (Ragnarsson et al., 1999; Berman et al., 2000; Sloots et al., 2000; Soffer et al., 2000). Cependant, les études sur les variations des symptômes du SII en fonction du cycle menstruel plaident fortement en faveur d'un rôle majeur des hormones (Heitkemper and Jarrett, 1992; Jackson et al., 1994). Il existe une altération de la motilité et/ou une perception augmentée des événements viscéraux normaux pendant la phase péri-menstruelle (Heitkemper et al., 2004; Heitkemper and Chang, 2009). De plus, les douleurs

stomacales et pelviennes, les nausées et les diarrhées sont plus fréquentes pendant les règles dans un groupe de femmes avec SII que dans un groupe contrôle (Heitkemper and Jarrett, 1992; Heitkemper et al., 1993). Ces données ne s'accompagnent pourtant pas d'une corrélation directe entre les taux d'hormones ovariennes plasmatiques et les symptômes péri-menstruels (Schmidt et al., 1991; Heitkemper and Jarrett, 1992) ce qui laisse penser que les patientes ont une altération plus généralisée de la perception viscérale de la douleur (Sanoja and Cervero, 2009).

D.III.1.b. Mécanismes des différences de genre

Les études expérimentales donnent des résultats conflictuels et les données existantes chez la femme sont encore rares. Même chez la femme en bonne santé, les seuils de perception aux stimulations viscérales expérimentales sont diminués par rapport aux hommes (Sloots et al., 2000; Mearadji et al., 2001). Ces différences pourraient être liées à des processus cognitifs comme l'hyper-vigilance. En IRMf, il apparaît que des stimulations viscérales activent préférentiellement le circuit attentionnel et émotionnel ACC-mPFC-AMG chez les femmes (Figure 26B) (Naliboff et al., 2003).

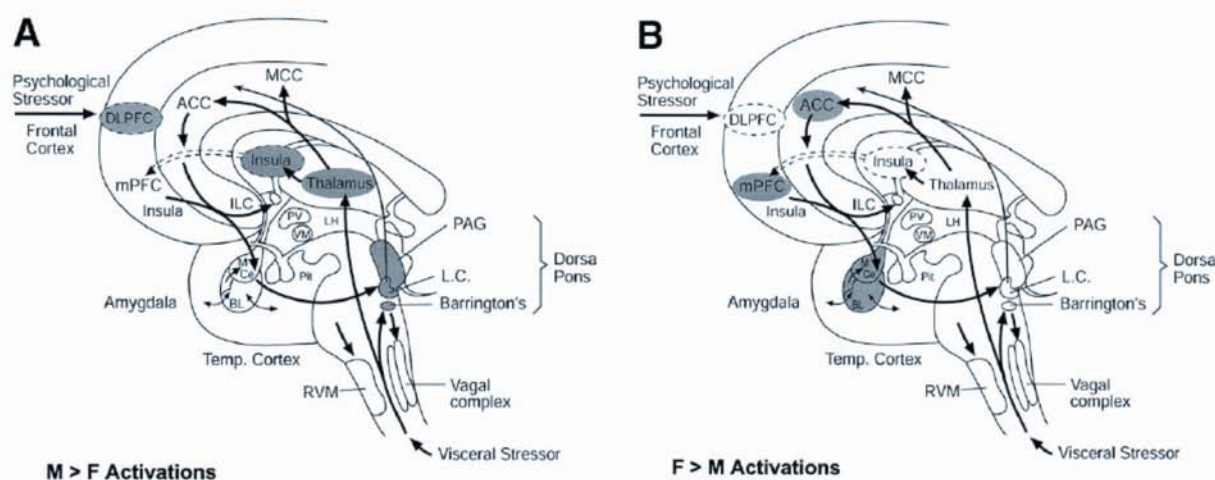


Figure 26. Représentation des circuits cérébraux activés par des stimuli viscéraux et cognitifs. D'après Naliboff et al., 2003. Les zones grisées indiquent les régions présentant une plus grande activation chez les hommes (A) et chez les femmes (B) en réponse à des stimuli aversifs.

Les différences de sexe dans la perception de la douleur peuvent aussi refléter des différences structurales et fonctionnelles dans les voies nociceptives viscérales. En effet, le traitement de l'information douloureuse est très différent chez l'homme et chez la femme qui présente notamment un "wind-up" plus prononcé (Berkley, 1997; Fillingim et al., 1998).

Il existe aussi des différences de genre dans les réponses autonome et neuro-endocrine à la distension viscérale (Tillisch et al., 2005).

Enfin, les hormones femelles et leur fluctuation peuvent contribuer à l'établissement et au maintien des altérations de la perception viscérale chez la femme. Les altérations hormonales associées au cycle menstruel produisent des effets centraux et périphériques multiples qui influencent la modulation de la douleur et la neuro-transmission (Bajaj et al., 2001). Les mécanismes sont encore mal compris mais la distribution des récepteurs aux hormones sexuelles dans toutes les régions du SNC impliquées dans la perception et l'inhibition de la douleur concorde avec cette hypothèse (Berkley et al., 2006). De plus, les stéroïdes sexuels modifient le traitement nociceptif spinal en régulant les niveaux des neuro-modulateurs de la douleur (Papka and Mowa, 2003). Les récepteurs aux stéroïdes sexuels sont présents dans tout le tractus gastro-intestinal où ils médient les effets directs des oestrogènes et de la progestérone sur les organes viscéraux (Waliszewski et al., 1997) comme la diminution de la motilité gastro-intestinale (Winborn et al., 1987).

D.IV. Mini-synthèse #03

MICI VERSUS SII : ATTEINTE ORGANIQUE VERSUS SOMATISATION?

En résumé, la sensation gastro-intestinale et la perception de la douleur viscérale peuvent être grandement conditionnées par les influences modulatrices du SNP et de la MEp. L'hypothalamus, l'AMG et la PAG reçoivent des afférences somatiques et viscérales de la périphérie et des afférences corticales en provenance du mPFC, de l'insula et de l'ACC. Ce réseau produit les réponses neuro-endocrines de la glande pituitaire et la modulation des réponses autonomes par les noyaux ponto-médullaires (locus coeruleus, noyau raphe). Ce circuit central du stress est sous le rétro-contrôle des projections mono-aminergiques ascendantes venues de ces noyaux du tronc cérébral et sous le contrôle des gluco-corticoïdes circulants qui exercent une action inhibitrice grâce à leurs récepteurs centraux situés dans le mPFC et l'hippocampe. L'ensemble de ces interactions régule la réponse au stress par le "système émotionnel moteur" dont les composantes effectrices principales sont les voies descendantes spinales, le SNA et l'axe HPA. Les hormones sexuelles, quant à elles, constituent un système parallèle pouvant influencer les réponses du SNA.

Les données concernant les influences modulatrices supra-spinales de la douleur viscérale dans les MICI sont très rares. Cette conclusion n'est pas étonnante au regard de l'étiopathogénèse inflammatoire nettement marquée des MICI. Bien que d'origine(s) encore inconnue(s), les MICI sont des troubles fonctionnels impliquant des mécanismes physio-pathologiques organiques. Un déséquilibre des fonctions ortho- et para-sympathiques pourrait cependant amplifier ou entretenir le processus inflammatoire, par exemple en réponse au stress.

Les choses sont différentes pour le SII. Les effets intriqués des hormones du stress et probablement des hormones sexuelles féminines participent à la modulation des symptômes du SII en influençant les activités toniques du SNA. Actuellement, le rôle de ces facteurs dans le déclenchement et/ou l'entretien du SII n'est pas déterminé. Cependant, on peut émettre l'hypothèse que la perturbation du système moteur émotionnel peut contribuer à précipiter la maladie chez un individu vulnérable, par exemple chez un individu rendu fragile psychologiquement par des événements de vie très difficiles dans l'enfance. Ainsi, l'implication des structures supra-spinales (système limbique en particulier) dans le SII est une donnée clinique très robuste, soutenue par l'impressionnant effet placebo observé chez les patients atteints de SII (Akehurst and Kaltenthaler, 2001; Lieberman et al., 2004). Un modèle bio-comportemental prenant en compte toutes ces données a donc été proposé pour expliquer, si ce n'est l'étiologie, du moins la modulation de la symptomatologie dans le SII (Figure 27) (Mayer et al., 2001).

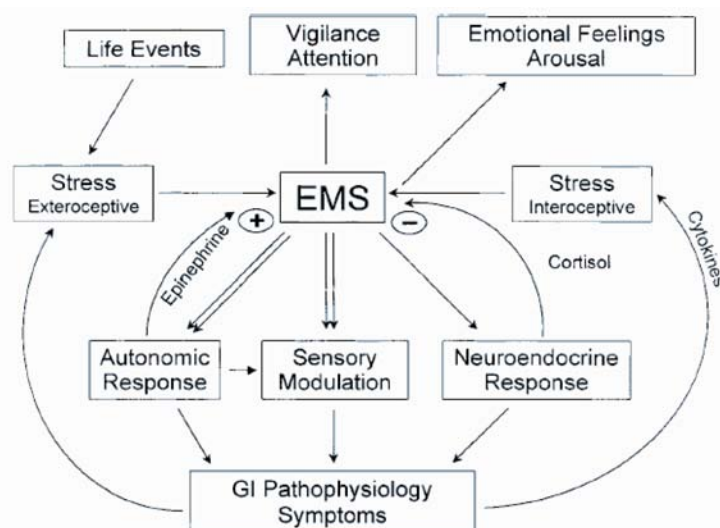


Figure 27. Modèle bio-comportemental prenant en compte les entrées et sorties du système moteur émotionnel. D'après Mayer *et al.*, 2001. Les voies efférentes de l'EMS sont activées par des stressseurs psycho-sociaux (extéroceptifs) et physiques (interoceptifs). Les principales sorties vers la périphérie sont les réponses du SNA, les réponses modulatrices de la douleur et les réponses neuro-endocrines. Les sorties vers le cerveau se traduisent en termes de modulation attentionnelle et émotionnelle. Le rétro-contrôle de l'EMS par l'intestin s'effectue par des mécanismes neuro-endocrines (adrénaline, cortisol) et afférents viscéraux. EMS, système émotionnel moteur ; SNA, SNA.

SYNTHESE

La revue des bibliographies scientifique et clinique nous a permis de montrer que les MICI et le SII sont deux entités pathologiques bien distinctes d'un point de vue étiologique (composante génétique forte pour les MICI et composante psycho-biologique pour le SII). Cependant, les facteurs environnementaux pourraient être prédominants dans les MICI de forme sporadique et les gènes pourraient être critiques dans la vulnérabilisation au SII, notamment dans le SII-PI. La synthèse des données rapportant les principales caractéristiques des MICI et du SII (Tableau XV) permet de dégager un point important : l'existence d'altérations physio-pathologiques similaires dans ces deux maladies (en gras). En effet, bien que probablement d'origine différente, les symptomatologies des MICI et du SII pourraient reposer sur le développement de mécanismes périphériques de même nature. Ces mécanismes sont : (1) l'altération de la communication neuro-immunitaire (inflammation neurogène et fonction immunitaire muqueuse perturbée) ; (2) l'altération de la communication nerveuse (dysfonction du SNA) et (3) l'altération de la communication neuro-endocrine (dysfonction de l'axe adrénohypothalamo-hypophysaire, hormones sexuelles).

Nous pouvons en tirer plusieurs conclusions. Premièrement, l'axe cerveau-intestin est au cœur de toutes ces dysfonctions. Son étude est donc indispensable pour la compréhension des symptômes et de leur origine. Deuxièmement, certaines données sur les MICI et le SII dégagent des pistes de recherche qui se complètent. En effet, il existe très peu d'informations sur les mécanismes de sensibilisation centrale dans les MICI. Les recherches sur le SII suggèrent que des mécanismes de neuro-plasticité peuvent intervenir pour augmenter les entrées centrales et alimenter l'hyper-activation tonique de l'axe cerveau-intestin. A l'inverse, les recherches très complètes sur les facteurs déclenchant l'inflammation au niveau de la muqueuse colique dans les MICI fournissent des hypothèses sur le rôle pathogène potentiel de la flore commensale dans le SII. Elle pourrait participer à l'initiation d'une micro-inflammation à l'origine de la sensibilisation périphérique. Troisièmement, le nombre important de facteurs étiologiques potentiels permet d'expliquer pourquoi il est si difficile d'identifier la physio-pathologie des douleurs chroniques coliques. L'hyper-activité motrice, l'hyper-sensibilité viscérale et les altérations centrales des circuits de la douleur sont encore mal comprises en raison des interactions qui lient tous les systèmes influençant l'axe cerveau-intestin.

Symptomatologie, épidémiologie et physio-pathologie comparées des MICI et du SII		
	MICI	SII
Phénotype	-douleur abdominale -co-morbidité organique -inflammation +++	-douleur abdominale -troubles du transit intestinal -co-morbidité psychiatrique -micro-inflammation
Facteurs de risque	-gènes +++ (TNF, NOD, IL23R, ATG16L1, IRGM) -infections (CMV, E.coli, M.paratuberculosis) -régime gras et sucré -hygiène excessive -tabac (MC) -contraception orale -allaitement artificiel exclusif	-gènes ? -infections (H.pylori, virus de la gastro-entérite) -régime gras, sucré et pauvre en fibres
Côlon	-dysbiose (lactobacilles, coliformes, bifidobactéries diminués ; entérobactéries, E.coli et bactéroïdes augmentés) -défaut protection de la barrière épithéliale -perméabilisation de la muqueuse -interactions neuro-immunes (nerf-mastocyte) -inflammation neurogène -infiltration et translocation bactériennes -perte de tolérance à la flore commensale -altération de l'immunité innée (cellule de Paneth, cellule dendritique, autophagie, anergie) -altération de l'immunité acquise (Th1, Th2, Th17, Ig, IgLC)	-dysbiose (lactobacilles, coliformes, bifidobactéries diminués ; entérobactéries, e.coli et bactéroïdes augmentés) -perméabilisation de la muqueuse ? -interactions neuro-immunes (nerf-mastocyte) -inflammation neurogène -infiltration ? -altération de l'immunité innée (cellule de Paneth, cellule dendritique, autophagie, anergie) -altération de l'immunité acquise ? (Th17, IgLC) -troubles sensori-moteurs (NK, CCK, VIP, SP)
Ganglion spinal	-sur-expression récepteurs-canaux (TRPV1, ASIC3, P2X3) -sur-expression récepteurs métabotropiques (NK1, trkA, B1?) -sur-expression NGF -neuro-dégénération -sur-expression canaux ioniques? (Nav1.8, Nav1.9, Cav2, Cav3)?	-sur-expression récepteurs-canaux TRPV1 -sur-expression récepteurs métabotropiques (NK1?, CLR?) -sur-expression NGF? -sur-expression canaux ioniques? (Nav1.8, Nav1.9, Cav2, Cav3)?
Moëlle épinière	?	-hyper-excitabilité spinale -LTP? -neuroplasticité via les récepteurs NMDA, GABA, CB, /?
Cerveau	?	-hyper-sensibilité somatique -diminution de la modulation endogène de la douleur -diminution des CIDN
Processus cognitifs	?	-effet placebo +++ -hyper-vigilance -anticipation -hyper-activation du système limbique
Stress	?	-historique d'abus -anxiété et stress chroniques -vulnérabilité au stress -hyper-activation de l'axe HPA (cortisol, ACTH, CRH augmentés)
Système nerveux autonome	-déséquilibre de la réponse du SNA (hypo-activation) -hypo-activation para-sympathique -hyper-activation ortho-sympathique	-déséquilibre de la réponse du SNA (hyper-activation en réponse au stress) -hypo-activation para-sympathique vagale -hyper-activation ortho-sympathique
Hormones sexuelles	-prédominance féminine dans la MC? -aggravation péri-menstruelle de la symptomatologie	-prédominance féminine nette (sex ratio 2 à 3:1) -aggravation péri-menstruelle de la symptomatologie

Tableau XV. Caractéristiques épidémiologiques et physio-pathologiques validées dans les MICI et le SII. En gras : caractéristiques communes. TNF, tumor necrosis factor; NOD, nucleotide oligomerization domain; PLT, potentialisation à long terme; NMDA, N-méthyl-D-aspartate; GABA, acide g-amino-butyrique; CB, récepteur cannabinoïdergique; CIDN, contrôles inhibiteurs descendants diffus; ACTH, adreno-corticotrop hormone; CRH, corticotropin releasing hormone; HPA, axe adrénno-hypothalamo-hypophysaire; CMV, cytomégalovirus; trkA, récepteur tyrosine kinase A; B1, récepteur à la bradykinine 1; NK1, récepteur aux neurokinines 1; NGF, NGF ; P2X, récepteur purinergique P2X; IL23R, récepteur à l'interleukine 23 ; ATG16L1, autophagy related 16 like 1; IRGM, immunity-related GTPase family M; IgLC, immunoglobulin light chain; CLR, calcitonin-like receptor.

Afin de déterminer la part respective des facteurs génétiques ou environnementaux, des atteintes précoces ou tardives, des mécanismes coliques ou spinaux et supra-spinaux (Figure 28), il est indispensable d'étudier les modèles animaux qui sont des systèmes "simples" permettant d'agir sur un nombre limité de paramètres.

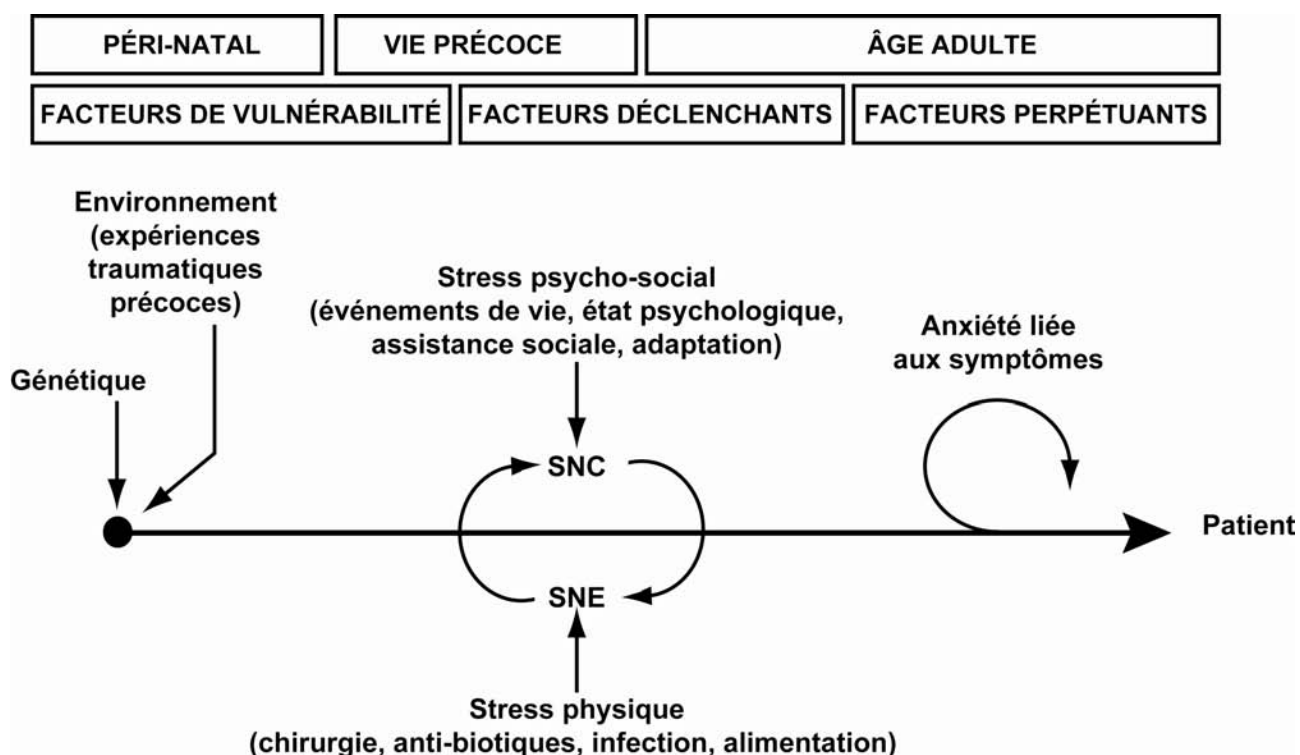


Figure 28. Chronologie de la survenue des facteurs physio-pathologiques dans les MICI et le SII.
Adapté de Mayer *et al.*, 2004.

Les modèles animaux fournissent des explications à certaines caractéristiques cliniques et physio-pathologiques clés par la reproduction des symptômes. Ils permettent alors d'émettre des hypothèses qui peuvent être testées chez l'animal puis chez le patient.

Travail de thèse

OBJECTIFS

La plupart des modèles animaux qui ont été développés pour l'étude des douleurs chroniques coliques cherchent à reproduire les caractéristiques des MICI (se référer au Tableau XIV, p93). Ils ont permis de mieux comprendre les mécanismes initiant et perpétuant l'inflammation du côlon. En revanche, très peu de modèles sont capables de mimer complètement le SII car l'induction de l'HSV est bien souvent liée à une forte inflammation sous-jacente. Les principaux modèles de SII qui existent sont des modèles de stress (par privation maternelle, contrainte physique, stress post-traumatique) qui impliquent le système nerveux central et rendent compte de l'hyper-sensibilité colique. Ils ont permis un apport important dans la connaissance de l'étiologie du SII, en particulier en montrant que le stress, même précoce ou aigu, a bien un effet direct à long terme sur la sensibilité du côlon. Cependant, ces modèles souffrent de deux principaux défauts : ils s'accompagnent d'une inflammation et l'étude des effets sur le système nerveux central est biaisée par le stress induit chez les animaux.

Pour être pertinent, un modèle animal doit répondre à trois critères de validité (Lipska and Weinberger, 2000) : validité de représentation ("face validity", reproduction des symptômes), validité de prédiction ("predictive validity", reproduction de la réponse aux médicaments) et validité de construction ("construct validity", reproduction des anomalies anatomiques ou biochimiques associées à la maladie). Les travaux scientifiques qui sont présentés dans la suite de ce mémoire ont été réalisés dans un modèle de SII répondant, bien qu'imparfaitement, à ces trois critères. Le laboratoire du Pr Alain Eschalier a en effet développé un modèle "nutritionnel" de SII basé sur l'instillation intra-colique de butyrate chez le rat (Bourdu et al., 2005). Le butyrate est un acide gras à chaîne courte produit par la digestion des fibres alimentaires et constitue le substrat énergétique préférentiel des colonocytes. Six instillations de butyrate réparties sur quatre jours induisent une hyper-sensibilité colique (validité de représentation) en l'absence d'atteinte inflammatoire observable (validité de construction). Cette hyper-sensibilité est atténuée par la morphine et les antalgiques employés classiquement en clinique (validité de prédiction). De plus, c'est le premier modèle à décrire un lien entre nutrition et SII.

Compte tenu de ces caractéristiques, nous avons considéré que le modèle butyrate est un modèle de choix pour l'étude du système nerveux dans l'HSV. L'objectif de notre

étude a été de démêler les mécanismes moléculaires faisant le lien entre l'hyper-sensibilité colique induite par le butyrate et le rôle des systèmes nerveux périphérique (ganglion spinal) et central (MEp). Pour cela, nous avons testé l'implication de molécules cibles (neurotrophine NGF et canaux ioniques ASIC) dans le test comportemental de distension colorectale et nous avons utilisé des techniques de biologie moléculaire et d'immuno-histochimie pour mettre en évidence des variations d'expression de ces facteurs et leurs interactions.

CHAPITRE 3. MATERIEL ET METHODES

A. Hygiène et sécurité

Toute la mise en place et surtout le maintien de la continuité des procédures ont été assurés avec Monique Etienne en qui j'ai trouvé une aide et une motivation précieuses. Grâce lui soient rendues.

Organisation des salles et optimisation des plans de travail

Chaque salle a été dédiée à une activité précise : histologie et immuno-histochimie, salle de préparation et biologie moléculaire. La salle de biologie moléculaire a reçu une attention particulière afin de limiter les risques de contamination. Son accès a été restreint et limité aux utilisateurs BM munis de blouse et de gants. Un poste de sécurité microbiologique a été installé pour les manipulations. Produits et réactifs pour la RT-PCR et échantillons ont été séparés dans deux congélateurs RNase free. Les outils de travail, machines, vaisselle, ustensiles, réactifs et consommables spécifiques de chaque activité ont été mis à disposition dans les salles correspondantes de façon à limiter l'éparpillement entre les différentes pièces. De la même façon, les plans de travail ont été optimisés de façon à rendre accessible rapidement le matériel nécessaire et ainsi de faciliter et de rendre plus efficace la tâche de l'expérimentateur.

Identification, stockage et accessibilité des produits

Les produits et réactifs ont été systématiquement identifiés en fonction de leur nature, de leur dangerosité et de leur date de péremption. Tous les produits dont la date de validité était incertaine ont été évacués. Les autres produits ont été rangés et classés dans les armoires prévues à cet effet par ordre alphabétique en suivant les recommandations d'hygiène et sécurité définies par l'INSERM.

Gestion des produits chimiques et déchets dangereux

Les produits chimiques de classe dangereuse sont stockés dans les armoires de

sécurité. Des containers dédiés à chaque type de réactif dangereux (acides, bases, paraformaldéhyde, bromure d'éthidium, di-amino-benzidine...) ont été mis à disposition des utilisateurs. De la même façon, des containers destinés aux déchets tranchants et coupants ont été placés dans chaque salle d'expérimentation. Une fois la traçabilité de ces containers assurée, le stockage, le traitement et l'évacuation des déchets dangereux sont pris en charge par la Faculté de Médecine.

Etablissement de procédures de stérilisation

Des protocoles standardisés pour le lavage de la vaisselle, la stérilisation avec autoclave et four ont été affichés au-dessus de chaque évier et placés à côté des machines de stérilisation.

Bonnes pratiques de laboratoire

L'ensemble de ces mesures d'hygiène et sécurité s'inscrit dans le cadre de la mise en œuvre des bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Les BPL constituent un mode d'organisation lié à la réalisation des expérimentations et à la manipulation des produits chimiques et biologiques qui a pour but de garantir la qualité, la reproductibilité et l'intégrité des données.

Les nouveaux entrants ont été pris en charge dès leur arrivée afin qu'ils prennent connaissance des locaux, de leurs collègues, de l'organisation, du mode de fonctionnement et des règles de sécurité du laboratoire.

Les procédures et les schémas opérationnels destinés à garantir la qualité des expérimentations et la pérennité du savoir (protocoles, résultats) ont été mis en œuvre dans le laboratoire.

Les protocoles de comportement (en douleur viscérale), de biologie moléculaire, de biologie cellulaire et d'immuno-histochimie ont été compilés ou rédigés (pour la plupart) et mis à disposition au format électronique sur le serveur de l'équipe et au format papier dans un classeur accessible pour l'ensemble de l'équipe. Chaque expérience réalisée dans le cadre de cette thèse a fait l'objet de la rédaction d'un protocole présentant dans le détail les étapes, l'organisation, la préparation des réactifs, la procédure et le savoir-faire nécessaire à la reproduction de la manipulation de la façon la plus standardisée possible.

Identification et tri des échantillons

Les échantillons des différents expérimentateurs (et notamment des précédents

chercheurs) ont été identifiés, triés et conservés dans les congélateurs à -80°C. Les échantillons d'origine indéterminée ont été jetés. Un récapitulatif des échantillons restants présentant les expérimentations et les protocoles correspondants a été laissé au laboratoire.

B. Techniques comportementales

B.I. Animaux

Des rats mâles Sprague-Dawley (Charles-River, France) pesant 225-250g (7-8 semaines) le jour de l'expérimentation ont été utilisés dans toutes les manipulations décrites ci-dessous. Les rats étaient stabulés 4 par cage en cycle jour-nuit 8h-20h dans une animalerie EOPS. Les animaux ont reçu un régime alimentaire particulier (régime "viscéral A04") plus riche en fibres que le régime standard qui induit une HSV (17% de cellulose *versus* 3%). Eau et nourriture étaient disponibles *ad libitum*. Toutes les expérimentations ont eu lieu après au moins une semaine d'acclimatation et ont été planifiées afin de limiter le nombre d'animaux utilisés et leur inconfort. Des animaux différents ont été utilisés pour chaque expérience afin de limiter le nombre de tests douloureux subis par chaque animal. Les expérimentations ont suivi les consignes éthiques de l'International Association for the Study of Pain (IASP) (Zimmermann, 1983) en accord avec les consignes du Ministère de l'agriculture et de la pêche (décret n°874848). Les protocoles d'instillations de butyrate et de distension colo-rectale ont été visés et approuvés par le comité régional d'éthique (autorisation n°CE13-04 et n°CE11-04).

B.II. Plan expérimental

Toutes les expériences ont été réalisées en aveugle par le même expérimentateur en possession d'une autorisation d'expérimenter sur animaux vivants (n°63-176). La méthode des carrés latins (dite "en blocs") a été utilisée afin que les traitements soient

répartis de façon homogène sur l'ensemble des animaux et la durée de l'expérience. Dans chaque bloc se trouvait un animal ayant reçu un traitement et son contrôle. L'ordre des traitements était randomisé. Tous les animaux d'un même bloc ont été utilisés en expérimentation dans la même période de temps. Les expérimentations ont été réalisées 3 jours (J3) après le début de l'induction du modèle d'hyper-sensibilité colique (HSC). Cette date correspond au délai nécessaire à l'obtention d'une HSC soutenue (Bourdu et al., 2005).

Un nouveau lot de rats a été utilisé pour chaque série expérimentale (traitements *in vivo*, biologie moléculaire).

B.III. Induction de l'hyper-sensibilité colique

L'HSC a été induite par l'instillation de butyrate de sodium dans le côlon descendant (à 7cm de la marge anale) sur animaux vigiles (Bourdu et al., 2005). Après évacuation d'éventuelles fèces par pression des parois rectales, chaque rat a reçu six instillations intra-coliques de 1mL d'une solution de butyrate de sodium 200mM dans du NaCl 0,9%(Sigma-Aldrich, France, pH7). Les instillations de butyrate ont été réalisées sur 4 jours (Figure 1). Les instillations débutaient le soir du premier jour (J0) puis étaient faites le matin et le soir des 2 jours suivants (J1 et J2) et enfin la sixième instillation était réalisée le matin du troisième jour (J3). Les instillations ont été réalisées à l'aide d'un cathéter Fogarty de 2mm dont l'embout est adapté (érodé à la flamme) afin d'éviter toute lésion de la muqueuse colique. Les animaux contrôles ont reçu du sérum physiologique (NaCl 0,9%, pH7) par la même procédure.

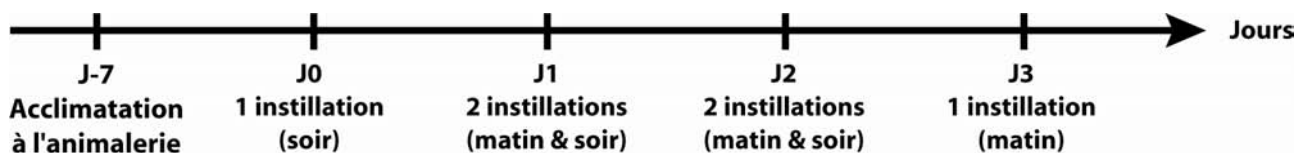


Figure 1. Induction de l'hyper-sensibilité colique par l'instillation répétée de butyrate.

B.IV. Evaluation de la sensibilité colique

Le test de distension colo-rectale (DCR) a été utilisé pour évaluer la sensibilité viscérale chez le rat. Cette méthode d'évaluation de la sensibilité colique est proche de celle utilisée chez l'homme et consiste en la détermination de la pression nécessaire à l'obtention d'une réponse douloureuse lors d'une distension du côlon distal. Cette méthode a été validée pour la première fois chez le rat par l'équipe de G.F. Gebhart (Ness and Gebhart, 1988b).

B.IV.1. Procédure de distension colo-rectale

Après mise à jeun, les animaux ont été placés en habitude dans la salle d'expérimentation la veille du test de DCR. A J3, les rats ont été habitués 2h au bruit provoqué par l'appareillage (barostat et compresseur) puis le test de DCR a été réalisé. Le score de sensibilité colique chez le rat est défini par la pression intra-colique nécessaire à l'obtention d'une réponse comportementale suite au gonflement d'un ballonnet introduit dans le côlon. Cette réponse est caractérisée par une élévation du train postérieur et une crampe abdominale (Figure 2).

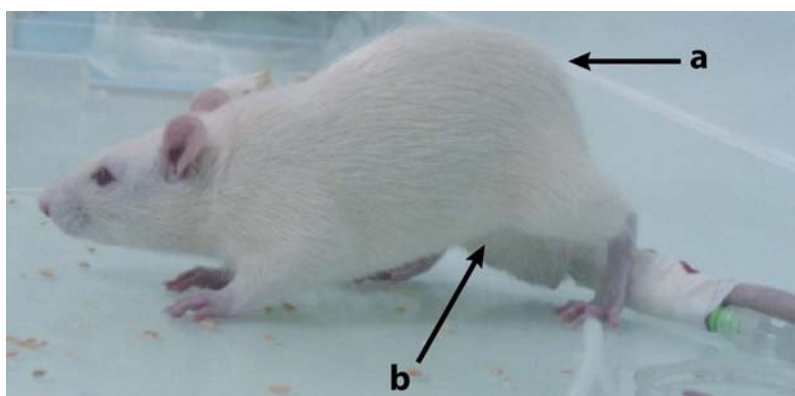


Figure 2. Crampe abdominale. La levée du train arrière (a) et la contraction abdominale (b) caractéristiques d'un comportement douloureux en réponse à la distension colo-rectale sont bien visibles.

Les ballonnets de DCR sont préparés en utilisant un cathéter Fogarty de 2mm coupé à 9cm de l'embout. Un ballonnet en latex flexible de 2cm de long est préparé en utilisant un préservatif non lubrifié et sans réservoir (Protex® standard plus, France) fixé à l'extrémité du cathéter. Sous anesthésie gazeuse (isoflurane 2%, Baxter, France), le

ballonnet de DCR est inséré par voie rectale à une distance de 7cm de la marge anale, ce qui correspond au lieu des instillations de butyrate (côlon descendant) puis la sonde est scotchée à la queue du rat. Après 5mn d'une période de réveil, le rat est placé libre de ses mouvements dans une cage en acrylate de polyméthyl (40cm x 40cm) et le cathéter est connecté à un barostat électronique (Synectics Visceral Stimulator, Medtronic, France). Le barostat permet de gonfler le ballonnet de 0 à 80mmHg sur une période de 8mn selon diverses modalités programmées par le logiciel. Il est ainsi possible d'effectuer un gonflage en rampe linéaire croissante (la pression exercée par le ballonnet sur les parois du colon augmente de façon régulière) ou un gonflage par paliers croissants (à intervalles réguliers, la pression augmente d'un incrément de 5mmHg). Les animaux subissent le test de DCR par groupe de 2. Une fois le test achevé, les animaux sont replacés dans une cage propre et reçoivent de la nourriture.

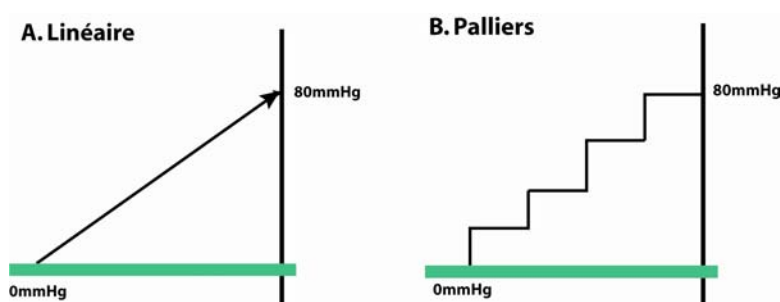


Figure 3. Programmes de distension utilisés pour l'évaluation de l'HSC chez le rat. La distension continue mais suit une rampe linéaire (A) ou par paliers (B).

B.IV.2. Méthode de scoring de Al-Chaer

Au laboratoire, la méthode d'attribution des scores de DCR est adaptée à partir de la méthode des seuils de Al-Chaer (Al-Chaer et al., 2000). Les animaux subissent une seule distension continue chacun. La pression dans le ballonnet est augmentée jusqu'à ce qu'un comportement douloureux soit observé ou que la pression atteigne un cut-off de 80mmHg. Le seuil (score) de sensibilité colique à la douleur correspond donc à la pression nécessaire pour induire la *première* crampe abdominale avec voussure.

B.IV.3. Mise au point de la méthode de scoring

Limites de la méthode de Al-Chaer

J'ai rencontré de nombreux problèmes en utilisant la méthode de Al-Chaer : biais inter-expérimentateur (non reproductibilité des valeurs des seuils pour les groupes témoins et traités), biais inter-animal (différence dans l'intensité de la réponse comportementale) et biais intra-animal (un même animal pouvant avoir une réponse douloureuse caractéristique ponctuelle mais reprendre tout de suite après une activité normale). Le biais inter-expérimentateur est en partie lié au fait que celui-ci doit définir ses propres critères d'appréciation de la douleur, qui sont plus ou moins "fins". De plus, les animaux n'ont pas toujours une réponse comportementale claire et caractéristique. L'observation répétée de rats qui crampent dans les premières minutes de distension (de 0-20mmHg) m'a conduit à choisir un protocole reposant sur plusieurs passages en DCR afin de pouvoir apprécier la reproductibilité de la mesure.

Mise au point d'une nouvelle méthode d'évaluation du score de DCR

J'ai adopté un protocole qui consiste en 3 passages en DCR par animal (avec un intervalle de récupération de 10mn) et qui repose sur une méthode de scoring particulière. Cette méthode repose sur l'observation et la re-transcription de tous les comportements observés pendant toute la durée de la DCR, c'est-à-dire de 0 à 80mmHg. Cela implique que tous les animaux subissent le test dans sa totalité. Cette méthode a pour but d'obtenir des résultats uniformes, reproductibles et indépendants de l'expérimentateur.

Dans un premier temps, j'ai renoncé à considérer uniquement les 2 comportements "pas de douleur" ou "crampe abdominale" mais j'ai décidé de prendre en compte l'ensemble des comportements observables durant le test de DCR. J'ai distingué les comportements "normaux" : exploration (E), émission d'ultra-sons (US), toilette (T) ; les comportements préluant la douleur et traduisant un malaise diffus : immobilité (I), repli (R), déplacement très court (D), toilette uro-ano-génitale (UG) ou encore spasmes (S qui précèdent souvent la crampe) et enfin les comportements purement douloureux : crampe abdominale avec voussure (l'animal semble pousser sur ses pattes, les testicules et le ventre ne touchent plus le sol), crampe étirement ou encore croisement de la patte arrière sous le ventre (Figure 4).

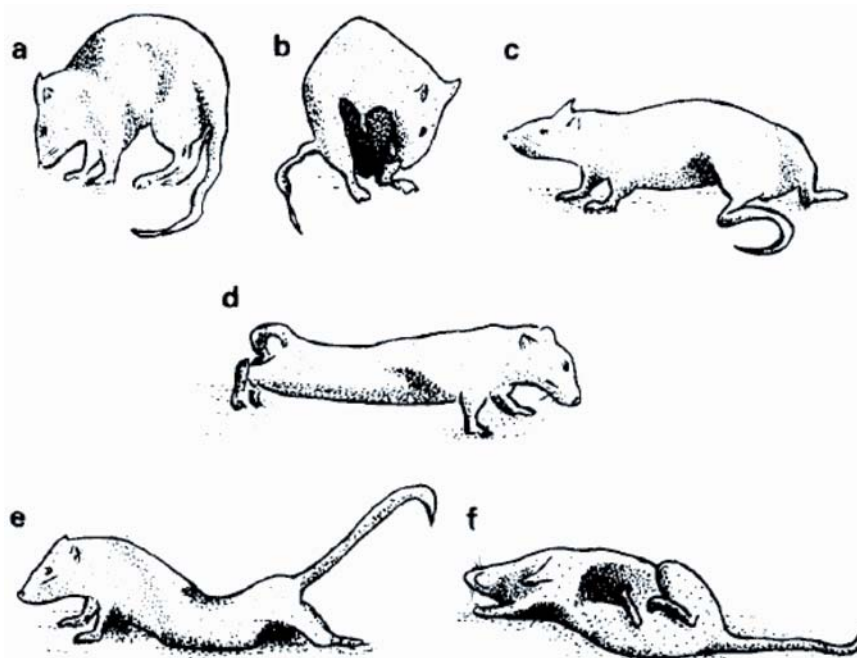


Figure 4. Différents comportements traduisant une douleur viscérale. a: voussure du dos ; b: toilette uro-ano-génitale ; c: contraction des muscles obliques et déplacement de la patte arrière vers l'intérieur ; d: crampe étirement ; e: écrasement de la partie basse de l'abdomen contre le sol ; f: position couchée avec la patte arrière comprimée contre l'abdomen. D'après Giamberardino *et al.* 1995.

Ces comportements symptomatiques d'une douleur ont été répertoriés (Giamberardino *et al.*, 1995). En général, le comportement observé est moins marqué : seule une faible crampe abdominale avec légère levée du train-arrière est visible.

Sur la base des comportements observés lors du test de distension, j'ai défini un algorithme de détermination du score. Après avoir retranscrit toutes les données de DCR, la valeur de la pression correspondant au seuil de douleur est déterminée en appliquant les critères suivants : (1) seules les crampes nettes se maintenant au moins une seconde sont considérées ; (2) c'est la première crampe observée qui détermine le score ; (3) pour qu'elle soit prise en compte, la crampe ne doit pas être suivie d'une reprise d'activité ; (4) le score des animaux ayant déféqués pendant la distension n'est pas pris en compte ; (5) les animaux ayant saigné pendant la distension sont éliminés de l'analyse des données ; (6) le score final est la moyenne des 3 pressions déterminées lors des 3 passages en DCR.

Un exemple archétypal de cotation est présenté ci-dessous pour un rat théorique présentant tous les comportements possibles au cours du test.

Exemple : Notation = E T 10 E I15 E R30 35 40 45 T55 E I65 65 UG65 70 75. Traduction = l'animal commence par explorer son environnement puis se toilette ; à 10mmHg, il crampe puis reprend son exploration ; il s'immobilise à 15mmHg, reprend son exploration

puis adopte un comportement de gêne et se recroqueville à 30mmHg ; il crampe ensuite à 35, 40 et 45mmHg (*NB.* Si on arrête le test là comme dans l'ancienne méthode, on conclura à un score égal à 35mmHg et on commettra une erreur) ; l'animal se toilette à 55mmHg, explore de nouveau puis s'immobilise à 65mmHg ; il crampe à 65mmHg puis toilette ses parties uro-ano-génitales à 65mmHg ; le rat crampe de nouveau à 70 et 75mmHg. Conclusion : le score est de 65.

B.V. DCR nocive répétée pour induire l'expression de la protéine Fos

La préparation et l'introduction des ballonnets de DCR ont été réalisées comme décrites précédemment. Après 5mn de récupération de l'anesthésie, les rats ont été placés dans une cage et une DCR nocive répétée a été réalisée comme décrit par R.J. Traub (Traub and Murphy, 2002). La procédure de DCR est discontinue. Une pression de 80mmHg est appliquée selon le mode on/off pendant 90mn (30s on, 90s off, 45 cycles).

B.VI. Traitements pharmacologiques *in vivo*

Administration d'anticorps anti-NGF

Les rats ont reçu une injection d'anticorps anti-NGF ou d'anticorps isotypiques contrôles (1:2000, 2ml/kg, Sigma, France) par voie intra-péritonéale.

Administration d'oligodéoxynucléotides ciblant la sous-unité $\alpha 1j$ du canal NALCN

Les rats ont reçu une administration d'oligonucléotide contrôle (mismatch de séquence GGAAGATCGTTCGGAAGTATGAT) ou d'antisens (séquence AGGATAGTGCTCGAAGGTCAT) à la dose de 12,5µg/rat par voie intra-thécale dans le renflement lombaire de la MEp.

Administration de capsazepine

Les rats ont reçu une administration de véhicule (sérum physiologique/DMSO 1:1) ou de capsazepine (antagoniste des récepteurs TRPV1, Sigma-Aldrich, France) à la dose de 2 ou 10mg/kg par voie intra-péritonéale.

Administration d'amiloride

Les rats ont reçu une administration de véhicule (sérum physiologique à 100µL/100g) ou d'amiloride (antagoniste des canaux ASIC, Tocris, UK) à la dose de 1, 3 ou 6mM par voie intra-veineuse.

Administration de PcTx1

Les rats ont reçu une administration de véhicule (sérum physiologique) ou de PcTx1 (antagoniste des canaux ASIC1a, don du Pr. Michel Lazdunski) à la dose de 40 ou 80µg/rat par voie intra-thécale dans le renflement lombaire de la MEp.

B.VII. Mesures de pH colique

B.VII.1. Détermination du pH luminal *in vivo*

Après 24h de jeûne, les rats ont été anesthésiés (isofluorane 5%, Baxter, France) et leur température corporelle a été maintenue à +37°C à l'aide d'une couverture chauffante. Après laparotomie, une petite incision a été faite dans le côlon (à 7cm de la marge anale). Une fois les fèces retirées, l'électrode du pHmètre a été introduite et la mesure du pH a été réalisée avec un pHmètre Digitrapper (Antimoine, France).

B.VII.2. Détermination du pH muqueux *in vitro*

Après 24h de jeûne, les rats ont été sacrifiés par décapitation. 2cm de côlon distal (de 6 à 8 cm de la marge anale) ont été prélevés. Après addition d'eau stérile (1,5 mL/100mg de tissu, pH7,3), le tissu a été homogénéisé avec un broyeur Turrax® et centrifugé pendant 10mn (+4°C, 3100g). Le pH du sur nageant de la muqueuse colique a été déterminé avec un pHmètre Digitrapper (Antimoine, France).

C. Techniques moléculaires

C.I. Etude du niveau d'expression des ARNm

C.I.1. Prélèvements de GRD et de MEp

Après décapitation, les GRD lombaires L1-L2-L6 et sacrés S1 innervant le côlon descendant (Hicks et al., 2002) et le renflement lombaire de la MEp ont été rapidement prélevés sur glace, congelés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C.

C.I.2. Extraction et analyse des ARN

Extraction

Les ARN totaux ont été extraits par la méthode phénol/chloroforme en conditions RNase-free. Les manipulations ont été réalisées dans la glace. Les tissus ont été homogénéisés avec un broyeur Turrax dans 2mL de Tri Reagent (MRCGene, France). L'homogénat a été placé dans un eppendorf 15mL et incubé 5mn à +20°C. Il a ensuite été vortexé 15s avec 400µL de chloroforme et incubé 2 à 3mn à +20°C. Après centrifugation à 12 000g pendant 15mn à +4°C, la phase aqueuse (surnageant translucide) a été prélevée et déposée dans un tube contenant 500µL d'isopropanol 80%. Après plusieurs retournements, le mélange a été incubé 10mn à +20°C. Les ARN ont alors été précipités par centrifugation à 12 000g pendant 15mn à +4°C. Après élimination du surnageant, le culot a été lavé dans 1mL d'éthanol 75% pendant 15s au vortex. Il a ensuite été récupéré par centrifugation 10mn à +4°C à 12 000g. L'opération a été renouvelée une seconde fois. Après élimination du surnageant, le culot a été séché 10mn sous la sorbonne. Le culot a été repris dans 30µL d'eau ultra pure puis incubé 10mn à +58°C. Après une brève centrifugation, l'ARN a été conservé à -80°C.

Dosage des ARN

Les ARN totaux extraits ont été dilués au 1/50^{ème} dans de l'eau ultra pure puis les absorbances (A) à 260nm et 280nm ont été mesurées au spectrophotomètre (WPA, France). Le rapport A260/A280 indique une éventuelle contamination protéique (rapport inférieur à 1.8) ou génomique (rapport supérieur à 2). La mesure spectrophotométrique a aussi permis d'évaluer la quantité d'ARN simple brin présente dans chaque échantillon.

Vérification qualitative et quantitative des ARN par Bio-Analyseur

Le Bio-Analyseur (Agilent, France) utilise la technologie des puces à ARN (RNA on chips) afin d'analyser jusqu'à 12 échantillons de façon répliquative et en limitant les biais. Les échantillons migrent sur mini-gel d'agarose en présence d'une échelle de poids moléculaire qui sert de standard quantitatif. La sensibilité de l'appareil permet d'analyser des quantités de l'ordre du nanogramme (puces Nano).

A partir de la mesure effectuée avec le spectrophotomètre, les ARN totaux ont été pré-dilués à 250ng/μL. 550μL de RNA 6000 nano gel matrix ont été déposés sur une colonne de centrifugation et centrifugés 10mn à 1500g. Le RNA 6000 nano dye a été vortexé pendant 10s et centrifugé doucement, à l'abri de la lumière. 1μL de dye a ensuite été ajouté à un aliquot de 65μL de gel filtré. Après vortexage et centrifugation 10mn à 13 000g à température ambiante (TA), le mélange gel+dye a été vortexé puis maintenu à l'obscurité tout le long de la manipulation. Après dénaturation 2mn à +70°C, les échantillons ont été placés dans la glace. 9μL de mélange gel-dye ont ensuite été chargés dans le puits G noir de la puce puis dans les 2 autres puits G. 5μL du RNA 6000 nano marker ont été déposés dans le puits "échelle" puis dans chacun des 12 puits destinés aux échantillons. 1μL d'échelle de poids moléculaire a été déposé dans le puits "échelle" puis 1μL de chaque échantillon a été déposé dans chacun des 12 puits prévus. La puce a été vortexée 1mn à 2400rpm puis installée dans la Bio-Analyseur. Le logiciel Bio-Analyzer 2100 Expert (Agilent, France) a assuré la migration et l'analyse des données. Pour chaque échantillon, le profil de migration montrant les ARNr 18S et 28S a été obtenu ainsi que la quantité précise d'ARN contenue dans chaque échantillon (Figure 5). Un score d'intégrité des ARN permet d'évaluer la qualité de l'ARN extrait.

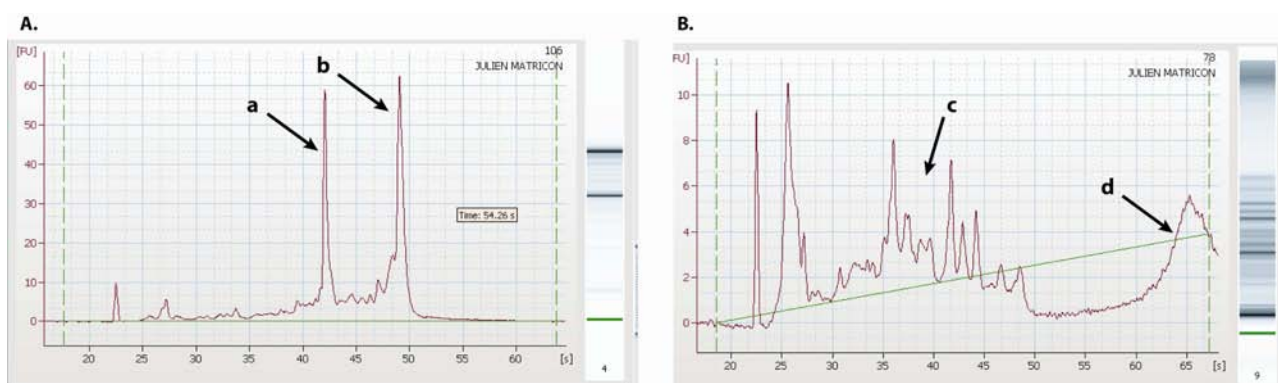


Figure 5. Analyse des ARN par le Bio-Analyseur. (A) Profil migratoire d'un échantillon de bonne qualité caractérisé par deux pics correspondant à l'ARNr 28S (a) et à l'ARNr 18S (b). (B) Profil migratoire d'un échantillon contaminé par de l'ADN génomique (c) et dégradé (d).

C.I.3. Transcription inverse

Les ARN totaux (2µg) ont été rétro-transcrits avec le kit First-Strand cDNA Synthesis Kit (GE Healthcare, France). Le volume nécessaire pour avoir 2µg d'ARN a été ajusté à 8µL avec de l'eau pure RNase free. Après dénaturation 10mn à +65°C, les échantillons ont été déposés sur glace. 1µL de DTT 200mM, 0.5µL de primers pd(N)6, 0.5µL de random primers et 5µL de Bulk First-Strand cDNA Mix (tampon Mg²⁺, dNTPs, Muloney M reverse transcriptase) ont été ajoutés pour obtenir un volume final de 15µL. Après mélange par pipettage, les échantillons ont été incubés pendant 1h à +37°C. Les cDNA obtenus ont été ensuite conservés à -80°C.

C.I.4. Bio-informatique

Les méthodes élémentaires de bio-informatique ont été utilisées pour trouver les séquences génomiques et transcriptomiques des gènes d'intérêt et pour effectuer le design des primers et des sondes nucléotidiques destinées à la PCR, à la PCR en temps réel et à l'hybridation *in situ*.

Recherche et identification de séquences des séquences ARN

PubMed/Nucleotide et Ensembl.org sont les 2 sites complémentaires qui ont été utilisés pour la recherche de séquences. La séquence génomique du gène d'intérêt puis la séquence de l'ARNm correspondant ont été recherchées. Les séquences du transcrit et de ses différentes isoformes ont été recherchées chez le plus d'espèces possibles. La

nature des modifications transcriptionnelles (épissage, présence de codons stop supplémentaires, présence d'une open-reading frame alternative...) a été étudiée dans la bibliographie disponible. Les différentes séquences obtenues ont été alignées et manipulées grâce au logiciel BioEdit qui permet d'identifier les séquences homologues entre différents ARN. PubMed/Nucleotide et Ensembl.org ont permis d'obtenir les informations concernant la structure exonique des ARN. Les exons spécifiques des différentes isoformes ASICs ont ainsi été identifiés.

Design des primers et sondes

Pour chaque transcrit, le design des primers et sondes a été réalisé sur les séquences présentant le moins d'homologie avec les autres isoformes et sur les exons impliqués dans l'épissage alternatif du transcrit primaire lorsque cela a été possible. La spécificité des séquences choisies a été vérifiée en utilisant les applications BLASTn et BLAST2seq dans PubMed/Nucleotide. Le design des primers et sondes a ensuite été réalisé avec le logiciel PrimerQuest afin de respecter les critères des primers : longueur inférieure à 25 nucléotides, absence de G en 5', amplicon à cheval sur 2 exons séparés par une séquence intronique, rapport GC/AT compris entre 50 et 60%, T_m des couples de primers similaire et compris entre +50 et +65°C. En fin, l'utilisation des logiciels NetPrimer et BioEdit a permis de choisir des primers qui ne possèdent ni séquences palindromiques, ni séquences homologues ou complémentaires ni répétitions de bases pouvant favoriser des auto-appariements.

Les primers lyophilisés ou reconstitués dans du tampon Tris-EDTA ont été aliquotés et conservés à -20°C.

La liste des primers utilisés pour la PCR semi-quantitative et la PCR en temps réel est présentée dans le Tableau I. Les conditions de cycle sont présentées dans le Tableau II.

Gène	Acronyme	Espèce	Séquence	Type PCR	Amorce sens (forward primer)	Amorce anti-sens (reverse primer)	Taille	Accession number
acid-sensing ion channel 1a	ASIC1a	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	classique	CACAGATGGTGATGAAAAGCAG	CATGGTAACAGCATTGCAGGTGC	505	NM_024154
acid-sensing ion channel 1a	ASIC1b	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	classique	ATGCCGTGCGGTTGTCCAGCTC	CATGGTAACAGCATTGCAGGTGC	562	AJ309926
acid-sensing ion channel 2A	ASIC2a	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	classique	CGCCAATACCTCCACTCTCC	ATGCTGAACCTGCTCGGTTT	400	NM_001034014
acid-sensing ion channel 2B	ASIC2b	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	classique	CTGCCTTCATGGACCGTTTG	CGAGTCCCCTCTCTGAGGACCGG	428	NM_012892
acid-sensing ion channel 3	ASIC3	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	classique	CCCAGACCCAGACCCAGCCCTCC	CTGTTCCAGAAATACCCAGGAC	519	NM_173135.1
ribosomal protein L32	L32	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	classique	GTGAAGCCCAAGATCGTCAA	TTGGTGACTCTGATGGCCAG	349	NM_013226.2
acid-sensing ion channel 1a	ASIC1a	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	real-time	CTG CTG TCA CAC TGT GCA ATC TCA	TGTCGGGATCTCATACCTGTTGT	117	NM_024154
nerve growth factor	NGF	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	real-time	ACAGGCAGAACCGTACACAG	ATCCAGAGTGTCGGAAGAGG	259	M36589
hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase	HPRT	<i>Rattus norvegicus</i>	ARNm	real-time	AGTTGAGAGATCATCTCCAC	TTGCTGACCTGCTGGATTAC	151	NM_012583

Tableau I. Liste des primers utilisés pour la PCR semi-quantitative et la PCR en temps réel.

Gène	qADNc (µg/µL)	Type PCR	Taille	Hot-start (mn)	T _m (°C)	Dénaturation (s)	Hybridation (s)	Elongation (s)	Cycles	Terminaison (mn)
ASIC1a	133ng/µL	classique	505	-	56	60	30	60	30	8
ASIC1b	133ng/µL	classique	562	-	60	60	30	60	32	8
ASIC2a	5ng/µL	classique	400	3	56,5	60	30	60	45	8
ASIC2b	133ng/µL	classique	428	-	58	60	30	60	30	8
ASIC3	133ng/µL	classique	519	-	54	60	30	60	30	8
L32	133ng/µL	classique	349	-	61,5	60	30	60	30	8
ASIC1a	5ng/µL	real-time	117	8	65	10	5	10	45	-
NGF	5ng/µL	real-time	259	8	65	10	5	10	45	-
HPRT	5ng/µL	real-time	151	8	61	10	5	10	45	-

Tableau II. Conditions de cycle pour la PCR semi-quantitative et la PCR en temps réel.

C.I.5. PCR semi-quantitative

Amplification élective in vitro

La PCR (Polymerase Chain Reaction) ou amplification élective *in vitro* des ADNc a été réalisée avec le kit MasterTaq (Eppendorf, France). 1µL d'ADNc pré-dilué (entre 6ng et 60ng/µL) de chaque échantillon a été ajouté au mix de réaction PCR constitué de 0,25µL de chaque dNTP à 25mM, de 0,8µL de MgCl₂ à 25mM, de 2µL de TaqBuffer 10X, de 4µL de TaqMaster, de 0,05µL de chaque primer à 10µM, de 0,2 µL de Taq Polymerase à 5U/µL et de 10,9µL d'eau "PCR grade" pour un volume final de 20µL.

Migration et analyse

5µL de DNA loading buffer 6X ont été ajoutés aux 20 µL de produit PCR obtenus. Après migration dans un gel d'agarose (2% agarose en TAE 1X) contenant du bromure d'éthidium 0,01%, l'intensité des produits PCR a été mesurée à l'aide du logiciel de traitement d'images Nikon Digital Science (Nikon, France). L'analyse semi-quantitative de la PCR a été réalisée dans la phase linéaire de l'amplification des ADNc en utilisant le gène ribosomique L32 comme référence. Les résultats sont exprimés comme le pourcentage d'expression du gène ASIC relatif à l'expression de L32 après standardisation par le calibrateur. Toutes les expériences ont été réalisées en triplicat.

C.I.6. PCR en temps réel

La PCR quantitative (qPCR) a été réalisée avec le kit LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I (Roche, France) qui utilise la technologie SYBR Green afin de détecter la fluorescence associée à l'amplification des ADNc en temps réel. 1,3µL d'ADNc pré-dilué (5ng/µL) de chaque échantillon a été ajouté au mix de réaction PCR constitué de 3,2µL d'eau "PCR grade", de 0,5µL de MgCl₂ à 25mM, de 2µL de TaqBuffer 10X, de 4µL de TaqMaster, de 0,31µL de chaque primer à 10µM et de 0,06µL de Taq Polymerase pour un volume final de 6,3µL. La gestion des cycles thermiques, la détection de la fluorescence et l'analyse des échantillons déposés en plaque 96puits (TwinTec jupées, Eppendorf, France) ont été prises en charge par l'appareil RealPlex de la firme Eppendorf (France).

La qPCR permet de déterminer la quantité absolue d'ADNc dans l'échantillon en utilisant une gamme de dilution d'ADNc ou de déterminer la quantité relative d'ADNc en considérant le nombre de cycles nécessaires à la détection d'une intensité de fluorescence supérieure à un seuil pré-défini (Cycle Threshold Ct) (Bustin, 2000). Le Ct est corrélé à la quantité d'ADNc initialement présente dans l'échantillon. J'ai utilisé la méthode relative des "delta Ct". Le ratio normalisé (r) d'expression du gène d'intérêt est calculé relativement à un calibrateur interne (ΔCt) et à un gène de référence ($\Delta\Delta Ct$) à partir de la formule $r=2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak and Schmittgen, 2001) (Figure 6).

	Echantillon test	Echantillon calibrateur
Gène cible	$C_{T(cible, test)}$	$C_{T(cible, cal)}$
Gène de référence	$C_{T(ref, test)}$	$C_{T(ref, cal)}$
$\Delta C_{T(test)} = C_{T(cible, test)} - C_{T(ref, test)}$		
$\Delta C_{T(cal)} = C_{T(cible, cal)} - C_{T(ref, cal)}$		
$\Delta\Delta C_T = C_{T(test)} - C_{T(cal)}$		
$2^{-\Delta\Delta C_T} = \text{ratio des expressions normalisées}$		

Figure 6. Méthode des ΔCt permettant la quantification relative de l'expression du gène cible dans un échantillon test par rapport à un calibrateur après normalisation par un gène de référence.

Le signal du gène d'intérêt (ASIC1a, NGF) est donc normalisé 2 fois : une fois par le calibrateur interne (un échantillon utilisé pour chaque manipulation) et une fois par le

gène de référence HPRT (hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase) qui code pour une enzyme de la voie de synthèse des purines. Le résultat obtenu est le nombre de fois que le gène d'intérêt (cible ASIC1a ou NGF) dans l'échantillon testé (test) est augmenté (ou diminué) par rapport à l'échantillon calibrateur (cal) après normalisation par le gène de référence (ref HPRT). Chaque échantillon a été testé en triplicat.

C.II. Western blotting

Prélèvements de GRD, de MEp et de côlon

Après décapitation, les ganglions spinaux L1-L2-L6-S1 et le renflement lombaire de la MEp ont été rapidement prélevés sur glace et congelés dans l'azote liquide. La muqueuse colique a été récupérée en "grattant" (scrapping) le côlon descendant sur sa longueur à l'aide d'un scalpel.

Extraction, dosage et dénaturation des protéines

Après décongélation à +4°C, les prélèvements ont été broyés au piston dans un volume de 300µL de tampon de lyse de modéré constitué de Tris-HCl pH7,4 à 50mM, d'EDTA à 0,5mM, de TritonX100 1%, de PMSF à 0,5mM en DMSO, d'aprotinine à 100UI/mL et de leupeptine à 20µM (Sigma, France). Les échantillons ont ensuite passés au sonicateur 3 fois pendant 2mn puis laissés 4h sous agitation sur la roue à +4°C. Après centrifugation 30mn à 13 000g à +4°C, le surnageant a été récupéré et conservé à -80°C.

La concentration en protéines des lisats tissulaires a été déterminée par dosage spectrophotométrique grâce au kit BCA protein assay (Interchim, France). Les échantillons protéiques ont ensuite été dilués à 4µg/µL en tampon Laemmli et dénaturés 3mn à +100°C.

Immunoblotting

50µg de protéines ont été séparées sur gel SDS-polyacrylamide 10% avec l'appareillage Mini-Protean3 Cell (BioRad, France) et transférées sur membranes de nitrocellulose (BioTrace NT, France) en milieu liquide. Après blocage des membranes pendant 1h à TA avec un tampon TrisBufferSaline-Tween20 à 1% (TBS-T) contenant 5% de lait en poudre écrémé, les membranes ont été incubées une nuit à +4°C avec les anticorps primaires appropriés. Les anticorps anti-ASIC1a (polyclonal de lapin, Alpha

Diagnostic International, USA), anti-NGF (polyclonal de chèvre, AbCys, France) et anti- β actine (monoclonal de souris, Lab Vision, France) ont été utilisés dilués au 1 :1000 dans du TBS-T/régilait 5%. Les membranes ont ensuite été lavées 5 fois 5mn en tampon TBS-T puis incubées 1h à TA avec les anticorps secondaires couplés à la horseradish peroxydase (Pierce, France). Après 5 lavages de 5mn en TBS-T, le signal a révélé avec une solution d'ECL (SuperSignal West Pico ou West Femto Chemiluminescent Substrate, Pierce, France) et les membranes ont été exposées sur des hyperfilms Kodak BioMax (Sigma, France) pour des durées de 10s à 10mn. L'intensité des bandes immuno-réactives a été quantifiée avec le logiciel ImageJ (NIH, USA) et normalisée par rapport à l'intensité de la β actine et d'un calibrateur interne (un échantillon utilisé à chaque manipulation). Les résultats sont exprimés comme le pourcentage d'expression de la protéine d'intérêt (ASIC1a ou NGF) relatif à l'expression de la β actine après standardisation par le calibrateur. Toutes les expériences ont été réalisées en triplicat.

D. Techniques histologiques

D.I. Hybridation *in situ*

Prélèvements de GRD

Après euthanasie gazeuse à l'isoflurane, les ganglions spinaux L1-L2-L6-S1 ont été prélevés et inclus en TissuTek (Sakura, France). Après immersion dans l'isopentane à -30°C, les prélèvements ont été conservés à -20°C.

Coupes et hybridation

Les prélèvements inclus en TissuTek ont été débités en coupes de 12 μ m avec un cryostat et transférées sur lames Superfrost Plus (MenzelGläser, France). Après une fixation de 10mn en paraformaldéhyde 4%, les lames ont été lavées pendant 10mn en PhosphateBufferSaline (PBS) à TA. L'activité peroxydase endogène a été inhibée par une incubation de 20mn dans le mélange méthanol/H₂O₂ à 0,3%. Après rinçage, les sections ont ensuite été pré-hybridées pendant 2h puis hybridées avec les sondes

oligonucléotidiques une nuit à 52°C dans une solution contenant 25% de formamide, du SSC4X, du Denhardt's 2,5X, de l'ADN de sperme de hareng à 0,5mg/mL, du dextran sulfate 5% et de l'EDTA à 4mM. Les sondes oligonucléotidiques sens et anti-sens ont été fournies par Nicolas Voilley (CNRS UMR6097, Sophia-Antipolis, Valbonne). Les sondes anti-sens correspondent à la séquence inverse des ARNm de rat ASIC1a CATTCTTGGAGACTTGGCTAAAGCGGAAC et ASIC1b CGGTCATCACTCTCATCCAGTCCTAGCAT. La sonde sens ASIC1a GGCACGATATTCGAGACATGCTGCTCTC a servi de mismatch.

Les sondes ont été marquées à la biotine-21-dUTP (Ozyme, France) en utilisant le kit Terminal Transférase de Roche (France) et utilisés séparément pour l'hybridation. Les coupes ont été lavées 2 fois en SodiumSalineCitrate2X (SSC), une fois en SSC1X puis une fois en TBS-T. Le signal a été amplifié avec le kit Biotine-Tyramide GenPoint (Dako, France).

Analyse des coupes

Après contre-coloration à l'hématoxyline, les coupes ont été montées en milieu aqueux (Aqueous Faramount Medium, Dako, France), observées avec un microscope Eclipse E800 (Nikon, France) et photographiées avec une caméra digitale (Nikon, France). La technique d'hybridation *in situ* ayant été défectueuse (pas de marquage spécifique) pour des raisons que nous ne sommes pas parvenus à élucider, j'ai réalisé le marquage des protéines ASIC1 avec des anticorps anti-ASIC1a et anti-ASIC1b (cf. E.II.).

D.II. Immunohistochimie (système peroxydase)

D.II.1. Prélèvements et fixation des tissus

Prélèvements et fixation des GRD

Après décapitation, les ganglions spinaux de rats ont été rapidement prélevés sur glace et fixés dans du paraformaldéhyde 4% en PBS (PAF, pH7, 4°C) pendant 2h. Les GRD ont été prélevés à deux niveaux : aux niveaux L1-L2-L6-S1 qui reçoivent les afférences du côlon descendant et aux niveaux T5-T6-T7-T8 qui ne sont pas innervés par le côlon et ont servi de contrôle.

Prélèvements et fixation du côlon descendant

Après décapitation, 2cm de côlon descendant ont été prélevés et fixés sur du liège. Après fixation dans le PAF 4% (pH7, +4°C) pendant 24h à 4°C, les côlons ont été rincés 24h dans du PBS à +4°C.

Prélèvements et fixation in vivo de la MEp

Après anesthésie au pentobarbital sodique (0,1mL/100g, voie i.p.), 250mL de PBS (pH7, 37°C) ont été injectés dans le système vasculaire du rat par voie intra-cardiaque. Les tissus ont alors été fixés par injection de 250mL de PAF4% (pH7, +4°C). Les différents segments vertébraux de la MEp (thoraciques T8-T9-T10-T11-T12-T13, lombaires L1-L2-L3-L4-L5-L6 et sacrés S1-S2) ont ensuite été prélevés et post-fixés 2h en PAF4% à TA.

D.II.2. Inclusion en paraffine et coupes

Inclusion en paraffine

Une fois fixés et/ou post-fixés, les échantillons ont subi un cycle automatique de déshydratations en éthanol et d'imprégnations en toluène puis en paraffine (Microm STP120, Microm, France). Les tissus imprégnés de paraffine ont ensuite été inclus en blocs de paraffine à l'aide d'un distributeur de paraffine (Microm EC-350-1, Microm, France).

Coupes

Les blocs de paraffine ont débités à l'aide d'un microtome (Microm HM-340-E, Microm, France). Des coupes de 5µm ont été réalisées sur des lames SuperFrost Plus (MenzelGläser, France), séchées une nuit à +37°C puis conservées à +4°C.

Des coupes de niveaux ont été colorées à l'Hémalun-Eosine afin d'identifier les structures d'intérêt.

Les coupes consécutives n'ont jamais été utilisées lors des comptages de neurones afin d'éviter que le même neurone ne soit compté deux fois.

D.II.3. Immuno-marquage en système peroxydase

Après passage à l'étuve à +56°C pour faire fondre la paraffine, les coupes ont été déparaffinées, réhydratées et placées 20mn dans un tampon de sodium citrate pH6 à 10mM (Sigma, France) chauffé à +100°C destiné à démasquer les sites antigéniques. Après repos 20mn sur la paillasse, les lames ont lavées TBS-T NaF et l'activité peroxydase endogène a été inhibée par incubation 10mn en H₂O₂ à 3%. Les sections sont ensuite lavées en TBS-T NaF pendant 10mn puis incubées une nuit à +4°C avec les anticorps primaires appropriés : anticorps polyclonal de lapin anti-ASIC1a (1:100, Interchim, France), anticorps polyclonal de cochon d'Inde anti-ASIC1b (1:2000, AbCys, France), anticorps polyclonal de lapin anti-Fos (1:100, AbCys, France) et anticorps polyclonal de chèvre anti-NGF (1:400, AbCys, France). Le lendemain, les sections ont été lavées en TBS-T puis traitées avec le kit streptavidine-biotine-peroxydase de Dako (Dako, France). La liaison anticorps-antigène a été révélée en utilisant la 3, 3'-diaminobenzidine (DAB) comme chromogène. Les contrôles négatifs ont été réalisés en omettant les anticorps primaires pendant la procédure d'immuno-histochimie.

D.II.4. Analyse des images

Acquisition des images

Les lames ont été observées et photographiées grâce à un microscope Eclipse E800 équipé d'une caméra digitale (Nikon, France). L'analyse des images a été réalisée avec le logiciel Lucia G (Nikon, France).

Méthodologie de mesure de la surface des neurones exprimant ASIC1

La section transversale (d) des neurones sensoriels exprimant les protéines ASIC1a et ASIC1b a été mesurée après calibration du logiciel Lucia G (Figure 7). A partir de cette mesure, la surface neuronale a été calculée selon la formule $S=\pi(d/2)^2$ en assimilant le neurone à un disque.

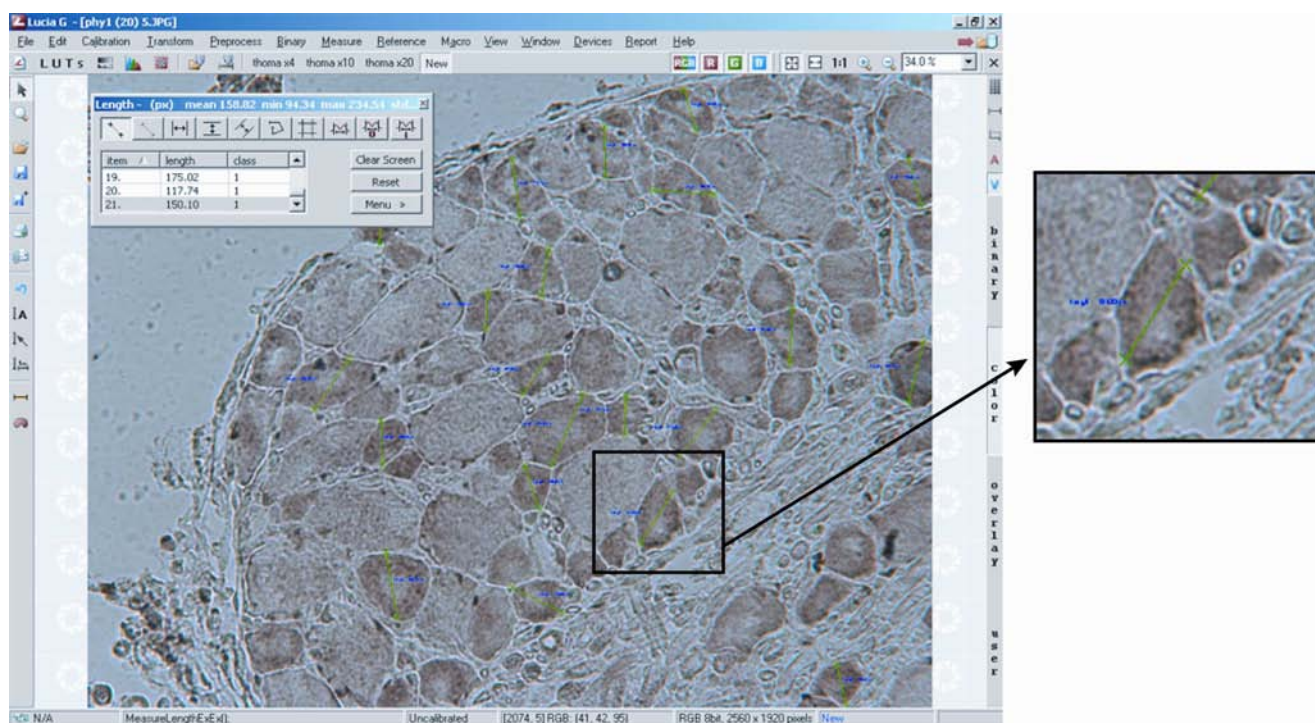


Figure 7. Interface Lucia G et mesure des sections transversales des neurones sensoriels marqués.

Méthodologie de comptage des neurones exprimant ASIC1

Le nombre total de cellules et le nombre de cellules immuno-réactives pour les protéines ASIC1a et ASIC1b ont été comptés. Afin de définir une cellule marquée en limitant le biais expérimentateur, les images ont été converties en niveaux de gris. Un seuil d'intensité de marquage a ensuite été défini en jouant sur le niveau de contraste. Ce seuil a été réglé de façon à obtenir l'intensité maximale de marquage spécifique (cellules exprimant la protéine ASIC1) sans avoir de bruit de fond parasite (cellules non marquées) (Figure 8). Les cellules ainsi sélectionnées ont été comptées. Le pourcentage de cellules marquées a été calculé dans l'absolu (nombre de cellules marquées / nombre de cellules total) et en fonction de la surface neuronale (nombre de cellules marquées dans une gamme de surface / nombre de cellules total).

Méthodologie de comptage des neurones exprimant Fos

Comme précédemment, un seuil a été défini et le nombre de neurones immuno-réactifs pour la protéine Fos a été compté dans les couches superficielles (laminae I et II qui sont spécifiquement impliquées dans le traitement du message nociceptif) de la corne dorsale de la MEp (Figure 9). Le logiciel Lucia G a été utilisé pour mesurer la surface correspondant à la zone de comptage. Les résultats sont exprimés en densité de neurones marquées par mm².

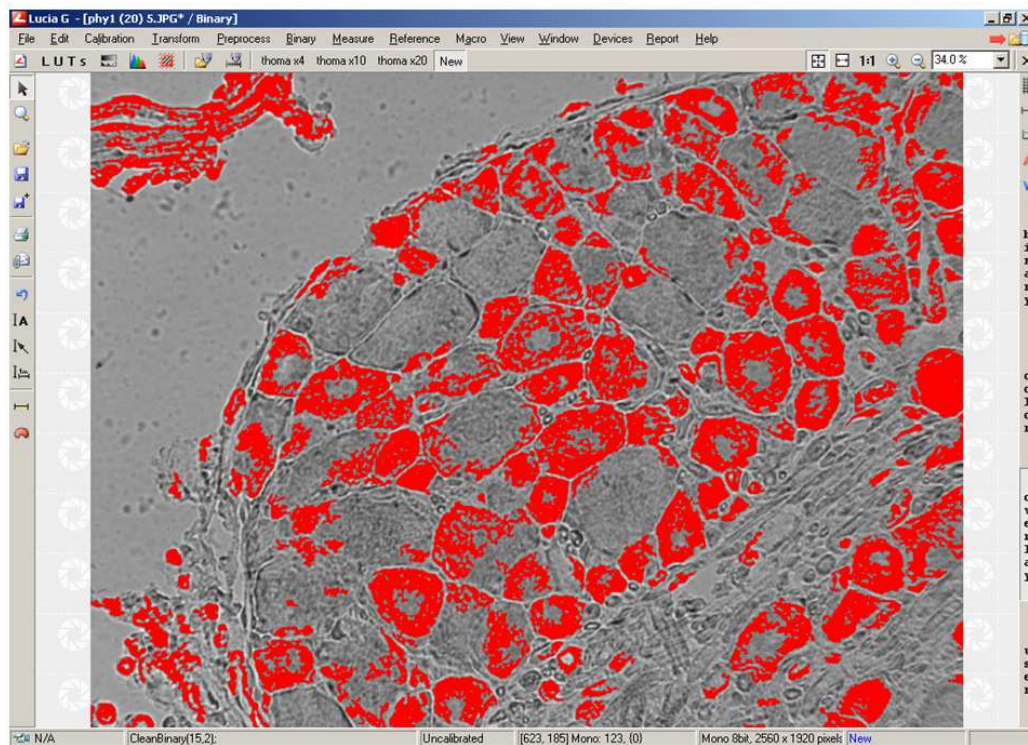


Figure 8. Seuillage de l'intensité de marquage ASIC1 dans les neurones sensoriels par réglage du contraste.

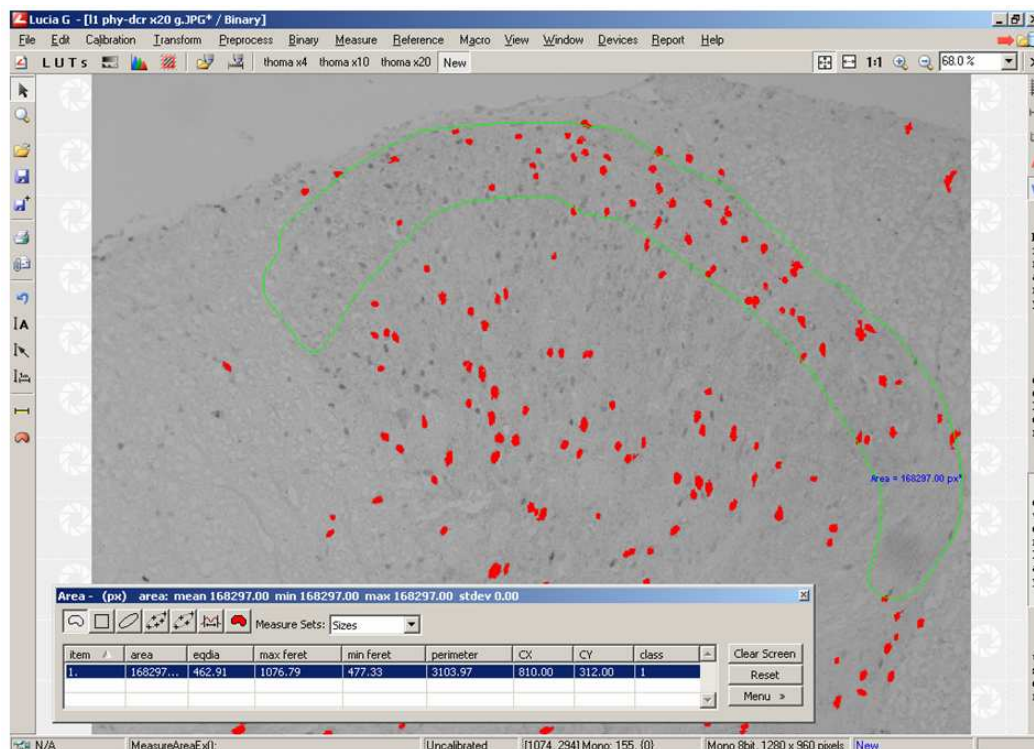


Figure 9. Seuillage de l'intensité de marquage Fos dans les neurones superficiels de la corne dorsale de la MEP par réglage du contraste.

Méthodologie de quantification de l'intensité de marquage NGF

Après conversion des images en niveaux de gris, le logiciel Lucia G a été utilisé pour mesurer la fraction d'aire immuno-marquée.

D.III. Immuno-fluorescence

D.III.1. Co-localisation Fos-ASIC1a dans la MEp

Les sections de MEp ont été déparaffinées et placées 20mn dans un tampon de sodium citrate pH6 à 10mM (Sigma, France) chauffé à +100°C. Après lavage des coupes en TBS-T, les sites antigéniques non spécifiques ont été bloqués pendant 1h à TA avec une solution de sérum d'âne à 5% en TBS-T (serum donkey, Jackson Labs, France). Les sections ont ensuite été incubées une nuit à 4°C avec un mélange des anticorps primaires : anticorps polyclonal de lapin anti-ASIC1a, 1:100, Alpha Diagnostic International, USA ; anticorps polyclonal de mouton anti-Fos, 1:200, AbCys, France. Le lendemain, les lames ont été incubées 3h à TA et à l'abri de la lumière avec un mélange des anticorps secondaires couplés à des fluorochromes dilués au 1:250 (donkey anti-rabbit TRITC et donkey anti-sheep FITC, Jackson Labs, France). Après montage entre lame et lamelle dans un milieu de montage pour fluorescence (Vectashield, Vector Labs, France), les coupes ont été observées au microscope à fluorescence Zeiss Scope A1 équipé avec une caméra digitale (Zeiss, France). Les contrôles négatifs ont été réalisés en omettant les anticorps primaires pendant la procédure d'immuno-histo-chimie.

D.III.2. Co-localisation confocale ASIC-NGF-trkA

Prélèvements des GRD

Après euthanasie gazeuse à l'isoflurane, les ganglions spinaux L1-L2-L6-S1 ont été prélevés et inclus en TissuTek (Sakura, France). Après immersion dans l'isopentane à -30°C, les prélèvements ont été conservés à -20°C.

Imagerie confocale

Les GRD ont ensuite été coupés en sections de 10µm au cryostat. Après rinçage

en PBS, les sections ont été bloquées dans une solution de sérum d'âne 5% en PBS-T puis ont été incubées une nuit à +4°C avec un mélange des anticorps primaires : anticorps polyclonal de lapin anti-ASIC1a, 1:100, Alpha Diagnostic International, USA ; anticorps polyclonal de cochon d'Inde anti-ASIC1b, 1:200, AbCys, France ; anticorps polyclonal de chèvre anti-NGF, 1:60, AbCys, France ; anticorps polyclonal de chèvre anti-trkA, 1:50, Santa Cruz, France et anticorps monoclonal de souris anti-CGRP, 1:500, Santa Cruz, France. Le lendemain, les lames ont été incubées 3h à TA et à l'abri de la lumière avec un mélange des anticorps secondaires couplés à des fluorochromes dilués au 1:500 : donkey anti-rabbit conjugué à Cy3, donkey anti-goat conjugué à FITC, donkey anti-mouse conjugué à Cy5 et donkey anti-guinea pig conjugué à Cy3 (Jackson Labs, France). Après montage entre lame et lamelle dans un milieu de montage pour fluorescence (Vectashield, Vector Labs, France), les coupes ont été observées au microscope confocal Zeiss (grossissement objectif x40, ouverture numérique 1,3) équipé avec une caméra digitale et le logiciel LSM510 (Zeiss, France). Le marquage non spécifique a été déterminé en excluant les anticorps primaires pendant la procédure d'immuno-histo-chimie.

E. Statistiques

Les résultats sont exprimés comme la moyenne \pm erreur standard à la moyenne (SEM) des valeurs brutes. Les différences liées au traitement (butyrate vs. sérum physiologique), aux produits injectés (oligodéoxynucléotide $\alpha 1$], anticorps anti-NGF, capsazepine, amiloride, PcTx1) ou au niveau anatomique considéré (MEp thoracique, lombaire ou sacrée) ont été analysées avec une analyse de variance (ANOVA).

Les résultats des tests de DCR ont été analysés en utilisant une ANOVA à deux voies (traitement x injection) suivie d'un test *post hoc* de Bonferroni pour comparer l'effet de la distension entre le groupe de rats traités avec du butyrate et le groupe de rats traités avec du sérum physiologique et l'effet des substances pharmacologiques injectées.

Les différences d'expression de la protéine Fos ont été analysées en utilisant une ANOVA à deux voies (distension x niveau spinal) suivie d'un test *post-hoc* de Bonferroni pour comparer l'effet de la distension entre le groupe de rats traités avec du butyrate et le groupe de rats traités avec du sérum physiologique en fonction du niveau médullaire

considéré.

Les résultats des mesures de pH ont été analysés en utilisant une ANOVA à une voie (traitement) suivie d'un test *post-hoc* de Student-Neuman-Keuls.

Les résultats des analyses de biologie moléculaire (PCR, qPCR, WB) et d'immunohistologie (ASIC1a, ASIC1b) ont été analysés en utilisant une ANOVA à deux voies (traitement x injection) suivie d'un test *post-hoc* de Student-Neuman-Keuls.

Un test *post hoc* de Kruskal-Wallis a été utilisé quand la distribution des valeurs ne suivait pas une loi normale.

Les différences ont été considérées significatives lorsque la probabilité qu'elles soient dues au hasard était inférieure à 5 chances sur 100 ($p < 0,05$).

CHAPITRE 4. RESULTATS

A. Mécanismes périphériques de l'HSC

A.I. Implication périphérique du NGF

De nombreux médiateurs sensibilisent les afférences nociceptives viscérales (Knowles and Aziz, 2009). Le NGF joue un rôle crucial dans les mécanismes périphériques de l'hyper-sensibilité viscérale d'origine inflammatoire (Delafoy et al., 2003; Guerios et al., 2006). L'expression de cette neurotrophine est augmentée dans les états de douleur viscérale inflammatoire (Lamb et al., 2004; Guerios et al., 2006) et l'injection de NGF exogène provoque une douleur viscérale (Delafoy et al., 2003). A l'inverse, l'administration systémique d'anticorps anti-NGF prévient le développement de la douleur viscérale dans différents modèles animaux (Delafoy et al., 2006; Guerios et al., 2006; Barreau et al., 2007). Dans la lignée de ces observations, l'hypothèse d'un rôle du NGF dans le développement de douleurs viscérales d'origine non inflammatoire (*i.e.* dans le modèle butyrate de SII) a été testée.

A.I.1. Prévention de l'HSC par les anticorps anti-NGF

Pour déterminer si le NGF est impliqué dans l'hypersensibilité colique (HSC) induite par le butyrate, des anticorps anti-NGF ont été administrés aux rats pendant les 4 jours recouvrant le traitement au butyrate.

Des rats traités avec du butyrate (n=12) ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (n=12) ont reçu une injection quotidienne (voie i.p.) d'anticorps anti-NGF ou d'anticorps isotypiques contrôles (1:2000, 2ml/kg, Sigma, France, n=6 par groupe). La dernière injection, à J3, a été faite 5h avant le test de DCR.

Le butyrate a induit une diminution des seuils de douleur à la distension colo-rectale (DCR ; *i.e.* le butyrate a induit une HSC) chez les animaux ayant été injectés avec des

anticorps isotypiques non spécifiques (IgG) (42 ± 4 mmHg *versus* 57 ± 4 mmHg pour les animaux traités avec du butyrate et du sérum physiologique, respectivement ; $p < 0,05$) mais n'a eu aucun effet sur la sensibilité colique des rats ayant reçu un traitement par des anticorps anti-NGF (55 ± 6 mmHg *versus* 56 ± 5 mmHg ; $p < 0,05$) (Figure 10).

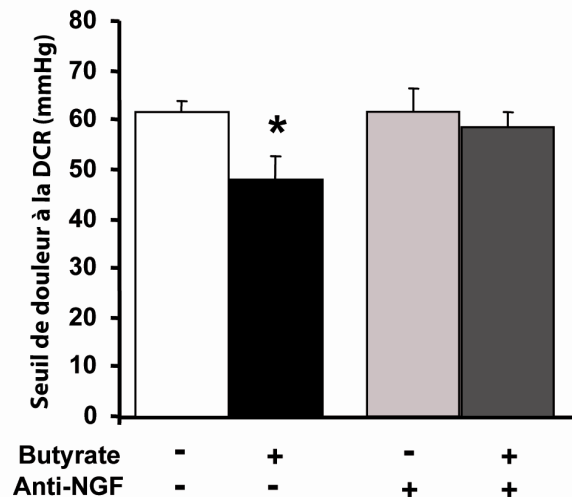


Figure 10. Le traitement sub-chronique avec des anticorps anti-NGF diminue l'HSC dans le modèle butyrate de SII. Les instillations rectales d'une solution de butyrate 200mM (6 instillations sur 4 jours) induisent une HSC caractérisée par une diminution des seuils de douleur à la DCR en comparaison avec le groupe traité avec du sérum physiologique. Les anticorps (anti-NGF ou isotypes non, spécifiques 1:2000, 2mL/kg, voie i.p., Sigma, France) ont été administrés de façon concomitante au butyrate, 1 fois par jour de traitement. L'HSC induite par le butyrate est complètement prévenue par les anticorps anti-NGF mais pas par isotypes non spécifiques. Les données sont exprimées comme la moyenne \pm SEM, * $p < 0,05$ butyrate *versus* contrôle, $n=6$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Bonferroni.

A.1.2. Sur-expression du NGF dans l'HSC

A.1.2.a. Sur-expression des ARNm NGF (GRD)

Le niveau d'expression des ARNm du gène NGF a été étudié afin de déterminer si l'HSC induite par le butyrate dépend d'une augmentation de l'expression du NGF.

Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. La quantité d'ARNm du NGF relative à celle des ARNm du gène de référence hypo-xanthine phosphoribosyl-transferase (HPRT) a été évaluée dans les GRD L1-L2-L6-S1 innervant le côlon descendant (Hicks et al., 2002) par PCR quantitative avec la méthodologie SYBR Green. Les GRD ont été prélevés à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique ($n=5$ par groupe).

L'expression des ARNm NGF est augmentée de 47% ($p < 0,01$) dans les GRD L1-L2-L6-S1 des rats traités avec du butyrate en comparaison avec les rats contrôles traités avec du sérum physiologique (Figure 11).

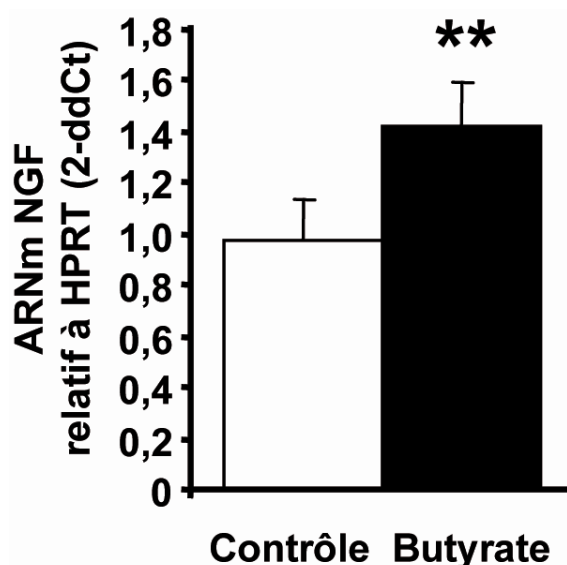


Figure 11. Le niveau d'expression des ARNm du gène NGF est augmenté dans les GRD lombo-sacrés après induction de l'HSC par le butyrate. La PCR quantitative a été réalisée sur les GRD L1-L2-L6-S1 obtenus à la fin du traitement au butyrate (J3). Toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicat. La quantité d'ARNm du gène NGF est relative à celle du gène HPRT. La quantité d'ARNm NGF est significativement augmentée chez les rats traités avec du butyrate comparés avec les rats contrôles traités avec du sérum physiologique (+47%). Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. ** $p < 0,01$ rats butyrate *versus* contrôle, $n=4-5$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

A.1.2.b. Sur-expression de la protéine NGF (GRD - côlon)

L'expression de la protéine NGF a également été examinée dans le modèle butyrate. Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale.

Les GRD L1-L2-L6-S1 et le côlon ont été prélevés à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique ($n=5$ par groupe).

L'expression du NGF a été quantifiée par immunohistochimie dans les GRD et révèle une augmentation de 64% chez les rats traités avec du butyrate ($p < 0,05$, Figure 12A). Aucun changement dans l'expression du NGF muqueux n'a été relevé par immunohistochimie (Figure 12B, gauche) ou par Western blot sur des extraits de muqueuse obtenus par grattage des parois coliques (Figure 12B, droite).

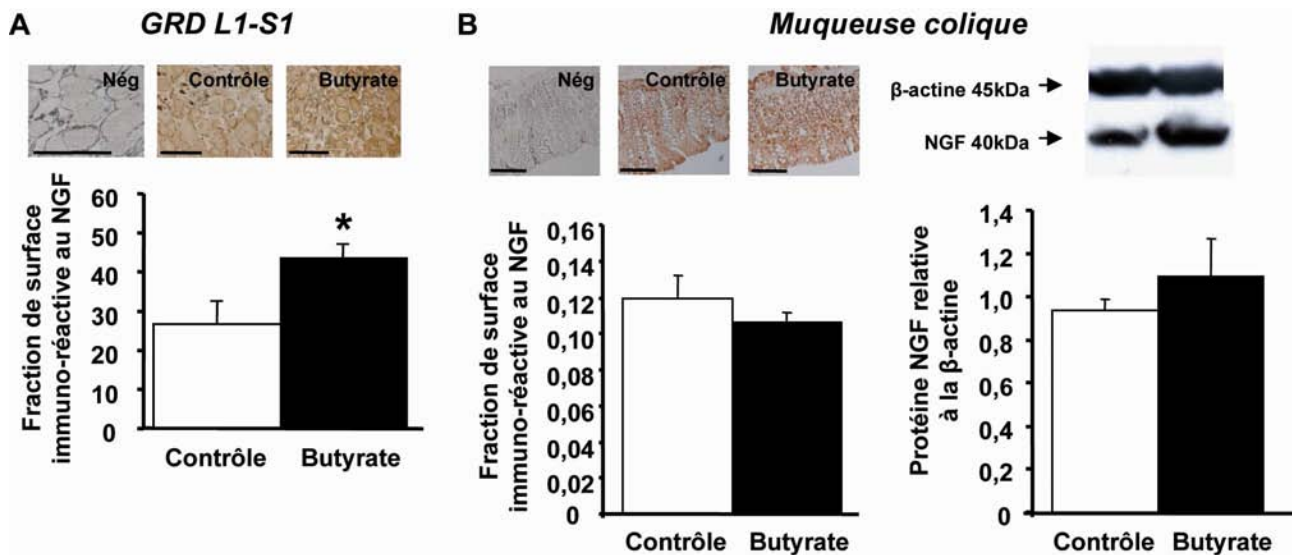


Figure 12. L'expression de la protéine NGF est augmentée dans les ganglions rachidiens lombosacrés (A) mais pas dans la muqueuse colique (B) après induction de l'HSC. Les échantillons de GRD L1-S1 et de côlon ont été obtenus à la fin du traitement au butyrate (J3). Les instillations rectales de butyrate chez les rats induisent une augmentation de la surface immuno-réactive au NGF dans les GRD L1-L2-L6-S1 (A, échelle = 100 μ m) mais pas dans la muqueuse colique (B, diagramme de gauche, échelle = 1000 μ m). L'expression de la protéine NGF dans la muqueuse colique a été aussi évaluée par Western blotting (B, diagramme de droite), ce qui confirme la présence de NGF dans la muqueuse mais ne révèle aucune différence dans le niveau d'immuno-marquage du NGF (après normalisation par rapport à la protéine de référence β -actine) entre les rats traités avec du butyrate et les rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Nég = témoin négatif. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ butyrate *versus* contrôle, $n=4-5$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

A.II. Implication périphérique des canaux ASIC

En périphérie, le NGF peut amorcer des changements neuro-plastiques responsables de la sensibilisation des neurones nociceptifs. Le NGF augmente l'expression de protéines impliquées dans la nociception comme les neuro-peptides, les récepteurs couplés au protéine G et leurs ligands ou les canaux ioniques dépendant du voltage (Mendell et al., 1999; Pezet and McMahon, 2006). En particulier, le NGF régule positivement l'expression du récepteur TRPV1 et des canaux ioniques ASIC (Mamet et al., 2003; Zhang et al., 2005). Ces deux types de récepteurs membranaires sont bien caractérisés au niveau du tractus gastro-intestinal où ils assurent diverses fonctions sensorielles dont la nociception (Jones et al., 2005; Page et al., 2007; Akbar et al., 2008) grâce à leur capacité à être activés par les protons (H^+) (Caterina et al., 1997; Waldmann et al., 1997a). Les protons sont en effet suspectés d'être un facteur déclenchant de la douleur et/ou de l'hypersensibilité par l'activation de courants cationiques dans les nocicepteurs (Reeh and Kress, 2001).

Par conséquent, l'hypothèse que le NGF soit capable d'induire une sensibilisation périphérique par des mécanismes non-inflammatoires impliquant la modulation du TRPV1 et/ou des ASIC a été testée.

A.II.1. Prévention de l'HSC par le blocage des ASIC

Afin de déterminer si le TRPV1 et/ou les ASIC sont impliqués dans l'HSC induite par le butyrate, l'effet sur les seuils de douleur à la DCR d'antagonistes TRPV1 et ASIC a été évalué dans le modèle butyrate.

Deux nouveaux lots de rats ont été utilisés pour ces séries expérimentales. Des rats traités avec du butyrate (n=10) ont reçu une administration par voie intra-péritonéale de véhicule (sérum physiologique/DMSO 1:1) ou de capsazepine (antagoniste des récepteurs TRPV1, Sigma-Aldrich, France) à la dose de 2 ou 10 mg/kg, 20mn avant le test de DCR. Des rats traités avec du butyrate (n=6-10) ont reçu une administration par voie intra-veineuse de véhicule (sérum physiologique à 100µl/100g) ou d'amiloride (bloqueur non-spécifique des canaux ASIC, Tocris, UK) à la dose de 1, 3 ou 6mM (soit 0,266 à 1,596µg/100g), 10mn avant le test de DCR.

Chez les animaux traités avec du butyrate, l'injection d'amiloride (6mM, i.v.) a complètement prévenu l'expression de l'HSC (42 ± 2 mmHg *versus* 65 ± 6 mmHg chez les animaux injectés avec l'amiloride et avec le véhicule, respectivement ; $p < 0,05$) (Figure 13A). En revanche, les seuils de douleur à la DCR chez les rats traités avec du butyrate n'ont pas été modifiés significativement par des doses plus faibles d'amiloride (1mM et 3mM). Par ailleurs, la capsazepine (2 ou 10mg/kg, i.p.) n'a eu aucun effet sur les seuils de douleur à la DCR chez les animaux traités avec du butyrate (Figure 13B).

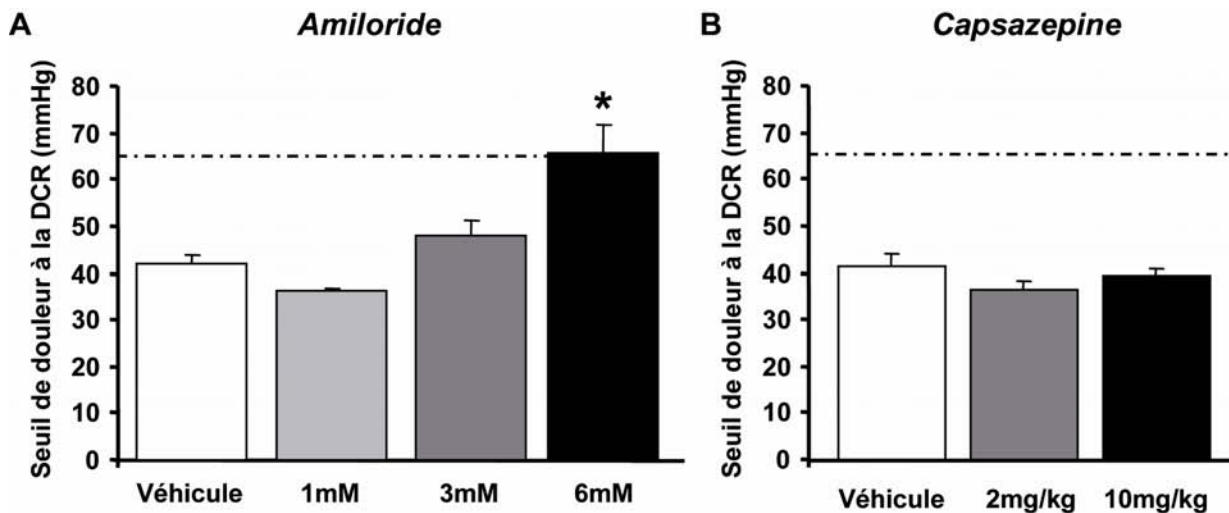


Figure 13. L'hypersensibilité colique induite par le butyrate est diminuée par l'amiloride, antagoniste des canaux ASIC (A), mais pas par la capsazépine, antagoniste du récepteur TRPV1 (B). L'effet de l'amiloride (1, 3 et 6mM, voie i.v.) (A) et de la capsazépine (2 et 10mg/kg, voie i.p.) (B) sur les seuils de douleur à la DCR a été évalué chez les rats à la fin du traitement au butyrate (J3). L'amiloride (6mM) bloque complètement le développement de l'HSC induite par le butyrate. En revanche, la capsazépine aux 2 doses utilisées n'a eu aucun effet sur les seuils de douleur à la DCR. Les lignes pointillées représentent les seuils de douleur en DCR des rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. * $p<0,05$ amiloride-6mM versus véhicule, $n=6-10$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Kruskal-Wallis.

A.II.2. Sur-expression des ASIC dans l'HSC

A.II.2.a. Sur-expression des ARNm ASIC1 (GRD)

L'étude du niveau d'expression des ARNm des gènes ASIC a été réalisée afin de déterminer si l'HSC induite par le butyrate dépend d'une augmentation de l'expression des canaux ASIC en périphérie.

Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. Les GRD L1-L2-L6-S1 ont été prélevés à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique ($n=4-5$ par groupe). Le niveau d'expression des ARNm des différentes sous-unités de canaux ASIC (ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b et ASIC3) a été déterminé par RT-PCR semi-quantitative.

Le niveau d'expression des ARNm ASIC1a est augmenté de 67% ($p<0,001$) et celui des ARNm ASIC1b est augmenté de 49% ($p<0,01$) dans les GRD des rats traités avec du butyrate en comparaison avec les rats traités avec du sérum physiologique. Le traitement au butyrate n'a pas modifié les niveaux des ARNm ASIC2a, ASIC2b et ASIC3 (Figure 14).

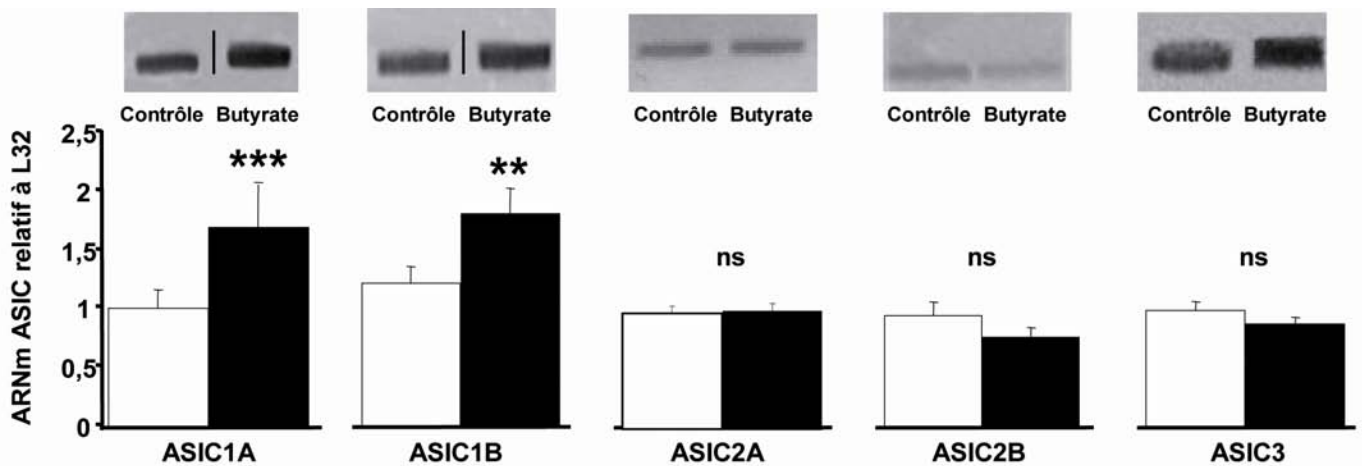


Figure 14. Le niveau d'expression des ARNm des sous-unités ASIC1a et ASIC1b est augmenté dans les GRD lombo-sacrés après l'induction de l'HSC par le butyrate. La RT-PCR semi-quantitative a été réalisée sur les GRD L1-L2-L6-S1 prélevés à la fin du traitement au butyrate (J3). Toutes les expériences ont été faites en triplicat. L'intensité des produits PCR ASIC a été normalisée par rapport à celle de l'ARN ribosomal L32. Les ARNm des sous-unités ASIC1a et ASIC1b sont significativement augmentés chez les rats traités avec du butyrate comparés aux rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Les gènes ASIC2a, 2b et 3 sont exprimés dans les GRD L1-L2-L6-S1 mais leur expression n'est pas modifiée par l'induction de l'HSC. Les données sont exprimées comme la moyenne \pm SEM. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ butyrate versus contrôle, $n = 4-5$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

A.II.2.b. Neurones sensoriels exprimant les ARNm ASIC

La mise en évidence histologique des ARNm ASIC a été entreprise par hybridation *in situ* dans les GRD afin d'évaluer le type des neurones sensoriels (mécanocepteur ou nocicepteur) exprimant les sous-unités ASIC1a et ASIC1b dans le modèle butyrate.

Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. Les GRD L1-L2-L6-S1 ont été prélevés à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique ($n = 5$ par groupe).

L'obtention d'un marquage nucléaire aspécifique (visible aussi bien avec les sondes d'hybridation sens qu'antisens ou mismatch) n'a pas permis cette analyse (Figure 15). Aucune des mises au point tentées (modification des conditions de stringence, modification des temps d'incubation, modification des concentrations de sonde, changement des enzymes...) n'a été couronnée de succès.

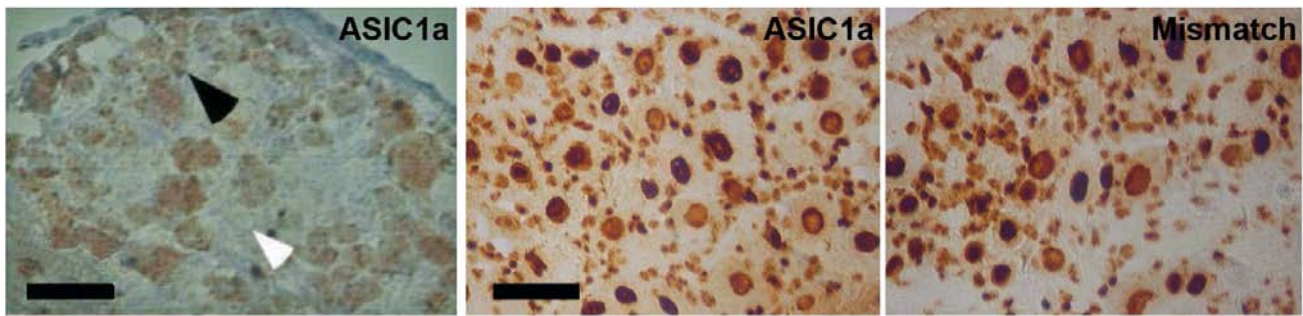


Figure 15. Marquage des ARNm ASIC1a par hybridation *in situ*. Alors que le marquage ASIC1a attendu doit révéler le soma de certains (et pas tous) neurones sensoriels (photographie de gauche ; flèche noire = neurone marqué ; flèche blanche = neurone n'exprimant pas le gène ASIC1a ; échelle = 50µm), un marquage nucléaire non spécifique a été obtenu aussi bien avec la sonde sens qu'avec une sonde d'hybridation dégénérée constituant le contrôle négatif (photographie centrale = ASIC1a ; photographie de droite = mismatch ; échelle = 50µm). La photographie de gauche est extraite de Voilley *et al.* J Neurosci. 2001 Oct 15;21(20):8026-33.

Cette expérience a pu être réalisée par la suite au niveau protéique grâce à l'utilisation d'anticorps anti-ASIC1a et anti-ASIC1b.

A.II.2.c. Sur-expression de la protéine ASIC1

Expression de la protéine ASIC1a dans le côlon

L'expression de la protéine ASIC1a a été analysée par immunohistochimie dans la paroi colique.

Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. Le côlon a été prélevé à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (n=5 par groupe).

Aucune différence dans la fraction de surface immuno-réactive au canal ASIC1a n'a été trouvée chez les animaux traités avec du butyrate ou du sérum physiologique (Figure 16). L'usage de l'anti-ASIC1b n'a pas été possible car, au moment de l'expérimentation, la firme Interchim a arrêté de le produire.

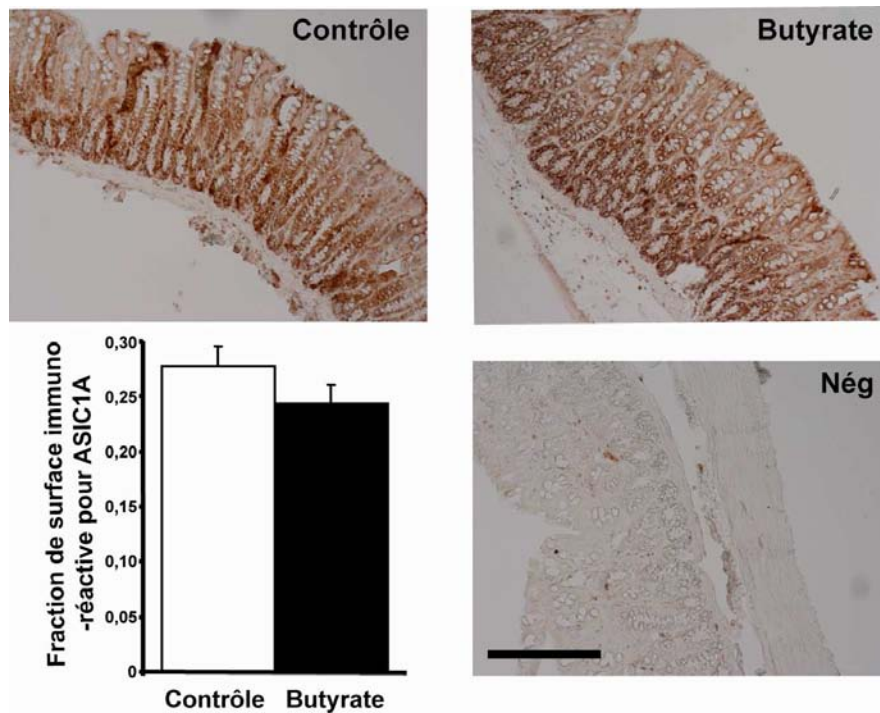


Figure 16. Le canal ASIC1a est exprimé dans le côlon des rats présentant une HSC induite par le butyrate. Les échantillons de côlon ont été obtenus à la fin du traitement au butyrate (J3). L'expression de la protéine ASIC1a évaluée par la fraction de surface marquée par immunohistochimie n'est pas modifiée chez les rats traités avec du butyrate en comparaison avec les rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Nég = témoin négatif. Echelle = 2000µm. Les données sont représentées comme la moyenne ± SEM.

Sur-expression des canaux ASIC1 dans les neurones sensoriels

Pour tester si l'augmentation des niveaux d'expression des ARNm ASIC1a et ASIC1b dans les GRD est associée à une augmentation de l'expression des protéines correspondantes, l'expression des protéines ASIC1a et ASIC1b a été analysée par immuno-histo-chimie dans les GRD.

Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. Les GRD ont été prélevés à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (n=5 par groupe). Les GRD ont été prélevés à deux niveaux : aux niveaux L1-L2-L6-S1 qui reçoivent les afférences du côlon descendant et aux niveaux T5-T6-T7-T8 qui ne sont pas innervés par la partie inférieure du tractus gastro-intestinal (Hicks et al., 2002).

Dans les GRD L1-L2-L6-S1, le nombre total de cellules immuno-réactives (IR) pour ASIC1a est augmenté chez les rats traités avec du butyrate en comparaison avec les rats contrôles (Figure 17B) tandis que le nombre de cellules ASIC1b-IR est augmenté mais pas de façon significative (Figure 17D). En revanche, dans les GRD thoraciques, aucune différence dans le nombre total de neurones ASIC1a- et ASIC1b-IR n'a été trouvée chez les animaux traités avec du butyrate ou du sérum physiologique (Figure 17A et C).

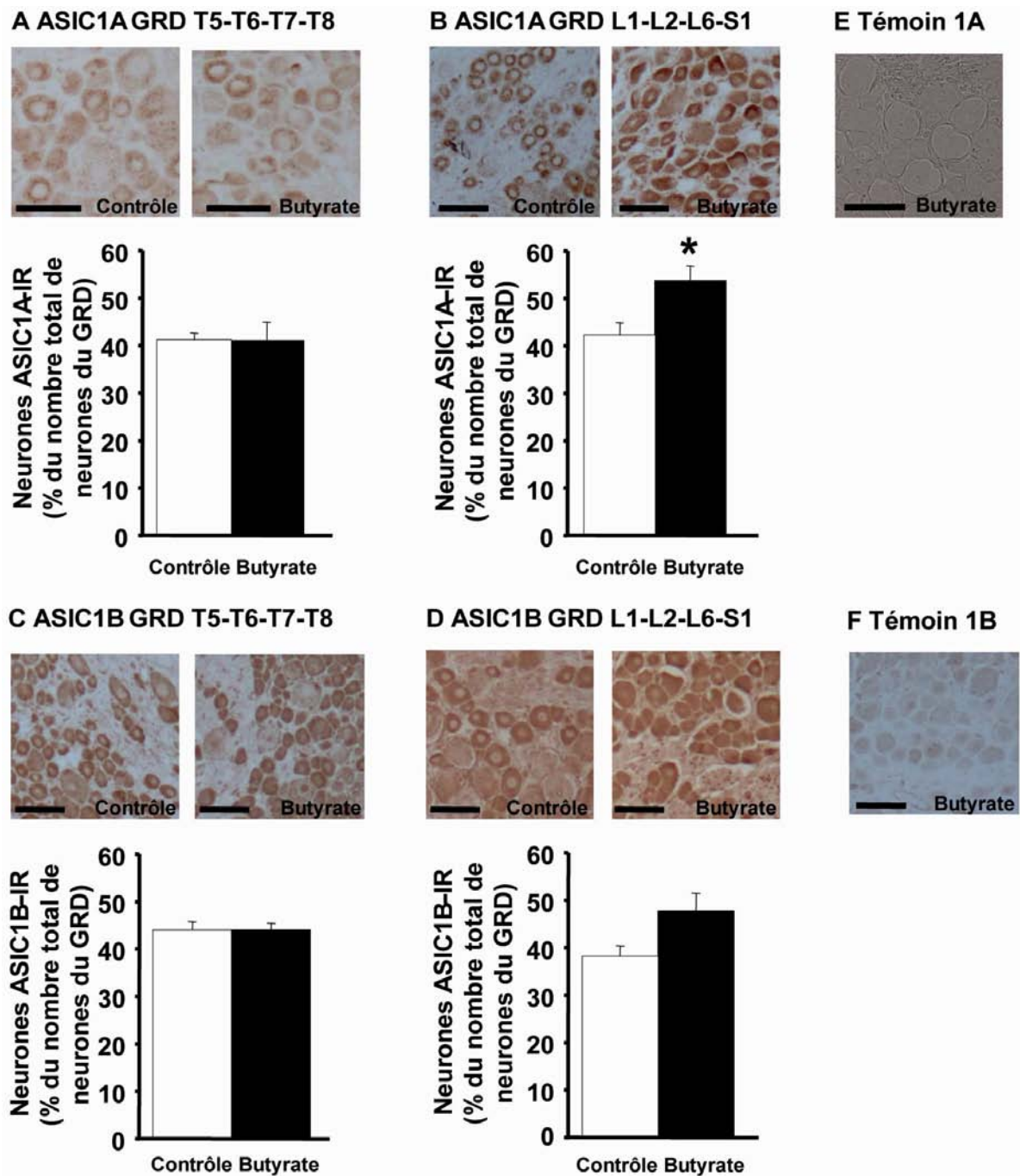


Figure 17. L'expression des protéines ASIC1 est augmentée dans les GRD lombo-sacrés après l'induction de l'HSC par le butyrate. Le nombre total de neurones immuno-réactifs (IR) pour les protéines ASIC1a et ASIC1b a été compté dans les GRD L1-L2-L6-S1 (B-D) et dans les GRD contrôles T5-T8 (A-C), prélevés à la fin du traitement au butyrate (J3). Dans les GRD L1-S1, le pourcentage de neurones ASIC1a-IR est augmenté significativement chez les rats traités avec du butyrate comparés aux rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Cette augmentation correspond à une sur-expression de 26% de la protéine ASIC1a. L'augmentation d'expression ASIC1b observée n'est pas significative ($p=0,08$). Dans les GRD thoraciques, aucune différence dans le pourcentage de neurones ASIC1a- et ASIC1b-IR n'est observée. Pour chaque condition (butyrate *versus* saline, ASIC1a *versus* ASIC1b et L1-L2-L6-S1 *versus* T5-T6-T7-T8), au moins 450 cellules ont été comptées, $n=4$ rats par groupe, échelle = 100 μ m. Les données représentent la moyenne \pm SEM. * $p<0.05$, butyrate *versus* contrôle, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls. Les témoins négatifs ont été réalisés en omettant l'anticorps primaire pendant la procédure d'immuno-histochimie (E-F).

La sur-expression des canaux ASIC1a est restreinte aux nocicepteurs

Pour déterminer si la sur-expression des protéines ASIC1a dans les GRD L1-L2-L6-S1 est due à une augmentation globale de l'immunoréactivité ASIC1a dans tous les types de fibres ou si cette augmentation est limitée aux fibres de petit diamètre (*i.e.* dans les nocicepteurs), la surface transversale des corps cellulaires ASIC1a-IR a été mesurée.

La proportion de neurones de petit diamètre (surface transversale de 200 à 500µm²) exprimant la protéine ASIC1a est sélectivement augmentée de 25,7 à 37,9% ($p < 0,05$) chez les rats traités avec du butyrate. Par conséquent, l'augmentation de l'immunoréactivité ASIC1a ne résulte pas d'une redistribution de l'expression de la protéine ASIC1a dans l'ensemble des fibres mais est restreinte aux neurones de petit diamètre (Figure 18A). De la même façon, la protéine ASIC1b est sur-exprimée spécifiquement par les nocicepteurs (Figure 18B).

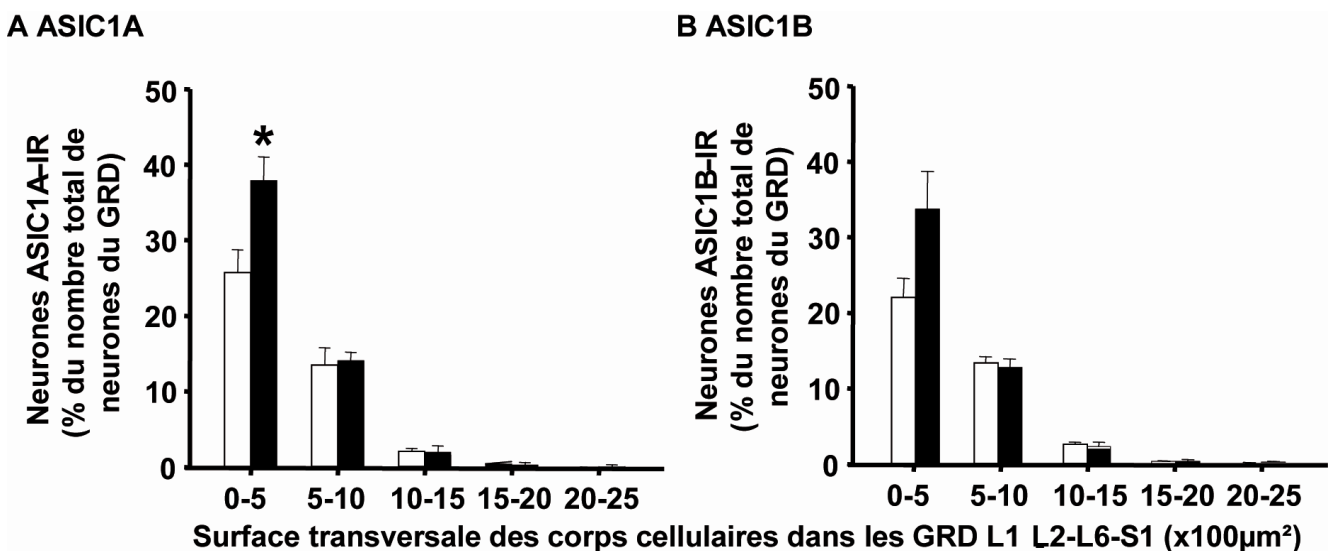


Figure 18. L'expression des protéines ASIC1 est augmentée spécifiquement dans les nocicepteurs après l'induction de l'HSC par le butyrate. La distribution du nombre total de neurones immuno-réactifs (IR) pour les protéines ASIC1a et ASIC1b en fonction de la surface transversale des corps cellulaires a été établie dans les DRG L1-S1 prélevés à J3. Le pourcentage de neurones ASIC1a-IR est augmenté significativement dans les neurones de petit diamètre (surface transversale <500µm²) chez les rats traités avec du butyrate comparés aux rats contrôles traités avec du sérum physiologique. La protéine ASIC1b est elle aussi sur-exprimée spécifiquement par les neurones de petit diamètre ($p=0,08$). Pour chaque condition (butyrate *versus* saline et ASIC1a *versus* ASIC1b), au moins 450 cellules ont été comptées, $n=4$ rats par groupe. Les données représentent la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$, butyrate *versus* contrôle, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

A.II.3. Acidification colique induite par le butyrate

Afin de confirmer l'implication des canaux ASIC au niveau périphérique dans le modèle butyrate, l'effet du traitement au butyrate sur le pH du côlon a été testé en mesurant les pH coliques intra-luminal et muqueux.

Deux nouveaux lots de rats ont été utilisés pour cette série expérimentale. Dans le premier lot, les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (n=10 par groupe) ont été anesthésiés à J3. Après laparotomie, une petite incision a été faite dans le côlon descendant (à 7cm de la marge anale) et a permis la mesure *in vivo* du pH. Dans le second lot, 2cm de côlon distal (de 6 à 8 cm de la marge anale) ont été prélevés à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (n=10 par groupe) afin de mesurer le pH *in vitro*.

Le traitement avec du butyrate induit une acidification colique qui se caractérise par des diminutions significatives du pH intra-luminal ($6,39 \pm 0,06$ versus $6,78 \pm 0,14$, $p=0,019$, Figure 19A) et du pH muqueux ($7,02 \pm 0,01$ versus $7,18 \pm 0,01$, t-test, $p<0,001$, Figure 19B) chez les animaux traités avec du butyrate comparés avec les contrôles traités avec du sérum physiologique.

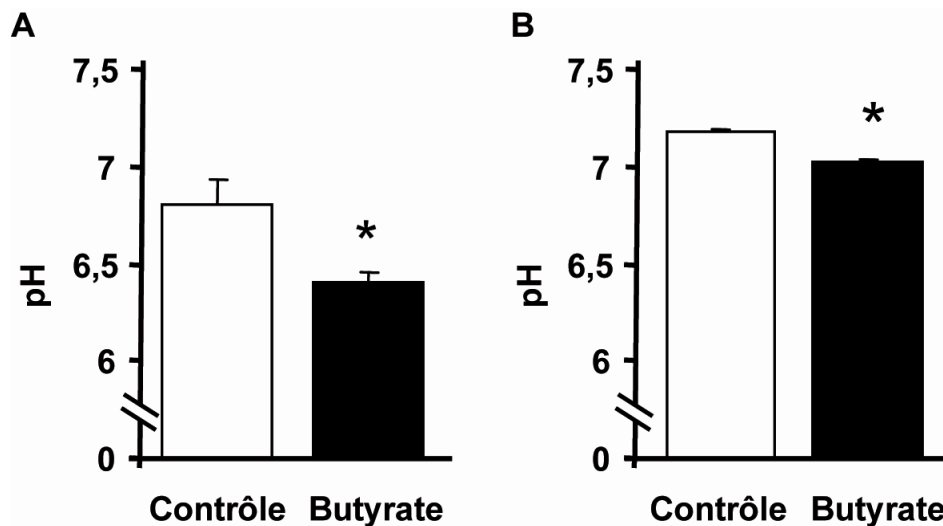


Figure 19. Le pH colique est diminué après induction de l'HSC par le butyrate. A la fin du traitement au butyrate (J3), le pH luminal (A) a été mesuré *in vivo* sur animaux anesthésiés et le pH muqueux (B) a été mesuré *in vitro* à partir de prélèvements de côlon homogénéisés dans un tampon salin. Les pH de la lumière et de la muqueuse coliques sont diminués chez les rats traités avec du butyrate en comparaison avec les rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Les données sont exprimées comme la moyenne ± SEM. * $p<0,05$ butyrate versus contrôle, n=10 par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

A.III. Modulation de l'expression de ASIC1 par le NGF

A.III.1. Co-expression de ASIC1a, du NGF et de trkA

Afin de déterminer si l'expression du canal ASIC1a peut être modulée par des voies de transduction impliquant le NGF et/ou son récepteur trkA dans les neurones sensoriels, la présence d'agrégats entre ces protéines a été recherchée par imagerie confocale. Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. Les GRD L1-L2-L6-S1 de rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (n=2 par groupe) ont été prélevés à J3.

La microscopie confocale à fluorescence a montré que les canaux ASIC1a sont colocalisés avec le NGF et son récepteur trkA dans les neurones sensoriels et notamment dans les neurones de petit-diamètre exprimant le CGRP (Figure 20).

A.III.2.Prévention de la sur-expression ASIC1 par les anticorps anti-NGF

Afin de déterminer l'existence d'un effet modulateur du NGF sur l'expression du canal ASIC1a, l'étude du niveau d'expression des ARNm ASIC1a et de la protéine ASIC1a a été réalisée dans les GRD L1-S1 de rats ayant reçu une administration répétée d'anticorps anti-NGF.

Trois nouveaux lots de rats ont été utilisés pour la PCR en temps réel, l'immuno-histo-chimie et le Western blot. Les GRD L1-L2-L6-S1 ont été prélevés à J3 dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique et injectés chroniquement avec des anticorps anti-NGF ou des anticorps isotypiques non spécifiques (n=5 par groupe).

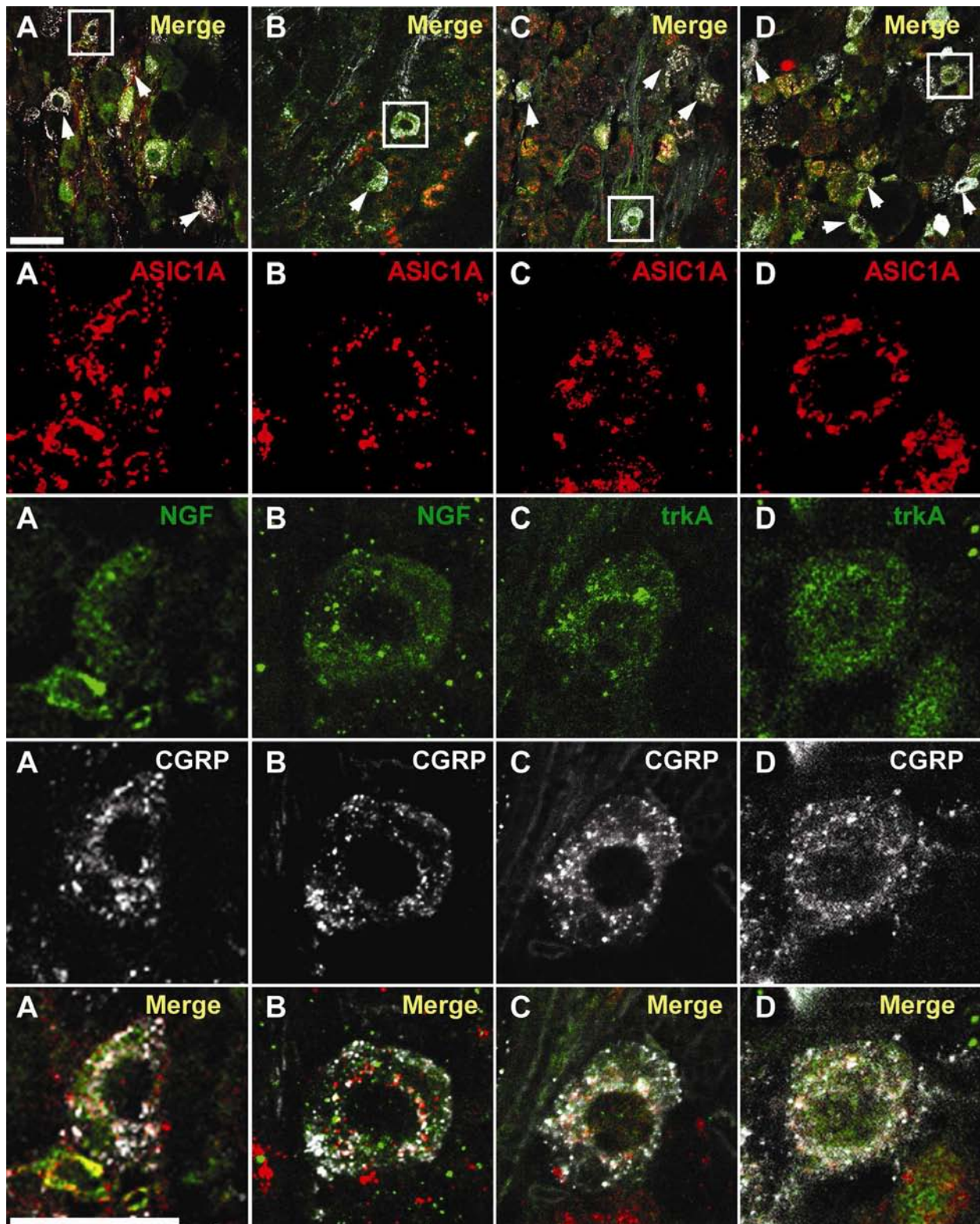


Figure 20. Colocalisation du canal ASIC1a avec le NGF et son récepteur trkA dans les nocicepteurs. L'imagerie confocale des GRD L1-L2-L6-S1 des rats traités avec du butyrate (A, C) ou avec du sérum physiologique (B, D) révèle que ASIC1a (rouge) est colocalisé (merge) avec le NGF ou son récepteur trkA (vert) dans les neurones sensoriels exprimant CGRP (blanc). Les carrés blancs dans la ligne du haut indiquent les neurones observés à un grossissement supérieur dans les lignes inférieures. Les flèches indiquent les cellules avec un triple marquage. Echelle = 50µm (ligne du haut) et 25µm (lignes inférieures).

Effet des anticorps anti-NGF sur l'expression des ARNm ASIC1a

La quantité d'ARNm du gène ASIC1a relative à celle des ARNm du gène de référence HPRT a été évaluée par PCR (SYBR Green) dans les GRD de rats injectés avec des anticorps anti-NGF pendant la durée du traitement au butyrate. Le niveau d'expression des ARNm ASIC1a ne varie pas chez les rats butyrate ayant reçu des anticorps non-spécifiques isotypiques (IgG) mais il est augmenté de façon non significative après traitement avec les anticorps anti-NGF (Figure 21).

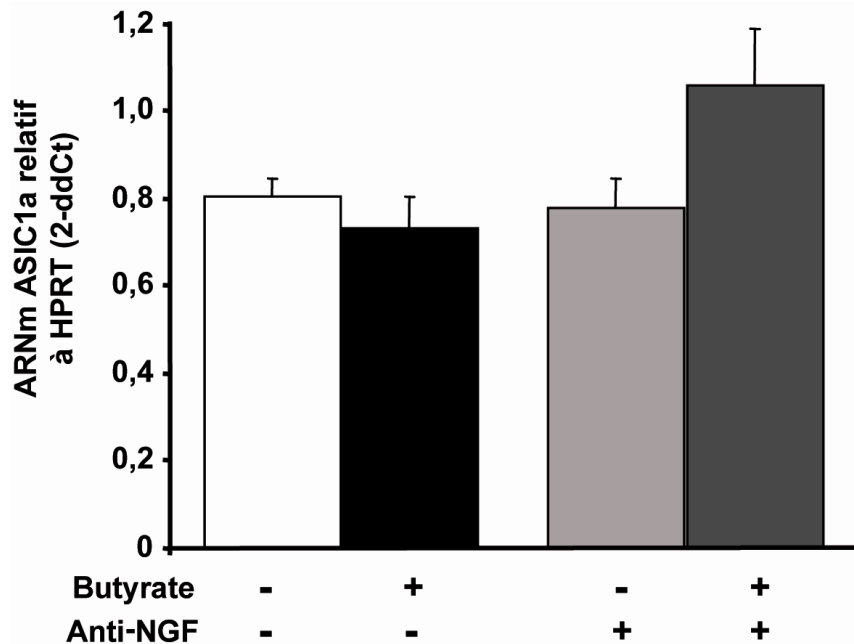


Figure 21. Le traitement avec des anticorps anti-NGF augmente le niveau d'expression des ARNm ASIC1a dans les GRD après l'induction de l'HSC. La PCR quantitative a été réalisée sur les GRD L1-L2-L6-S1 obtenus à la fin du traitement au butyrate (J3). Toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicat. La quantité d'ARNm du gène ASIC1a est relative à celle du gène HPRT. La quantité d'ARNm ASIC1a est augmentée chez les rats traités avec du butyrate comparés avec les rats contrôles traités avec du sérum physiologique (+36%, $p=0,12$). Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM, $n=4-5$ par groupe.

Le traitement anti-NGF prévient la sur-expression des protéines ASIC1a dans les nocicepteurs

Afin de tester si la sur-expression des protéines ASIC1a est le résultat de l'augmentation du NGF dans les neurones sensoriels, l'expression du canal ASIC1a a été quantifiée dans les GRD par immunohistochimie après une administration répétée d'anticorps anti-NGF chez des animaux traités avec du butyrate et du sérum physiologique. Aucun changement dans l'immuno-réactivité ASIC1a n'a été observé par immunohistochimie après traitement anti-NGF. Le groupe traité avec le butyrate aussi bien que le groupe contrôle ont présenté le même pourcentage de neurones ASIC1a-IR (45,08 \pm 1,58% vs. 44,87 \pm 1,31%, $p=0,92$). Une analyse de la surface transversale des

neurones ASIC1a-IR n'a révélé aucune modification de l'expression ASIC1a en fonction du diamètre des fibres considérées (Figure 22A). De la même façon, la sur-expression de la protéine ASIC1b dans les nocicepteurs est prévenue par le traitement sub-chronique avec des anticorps anti-NGF (Figure 22B).

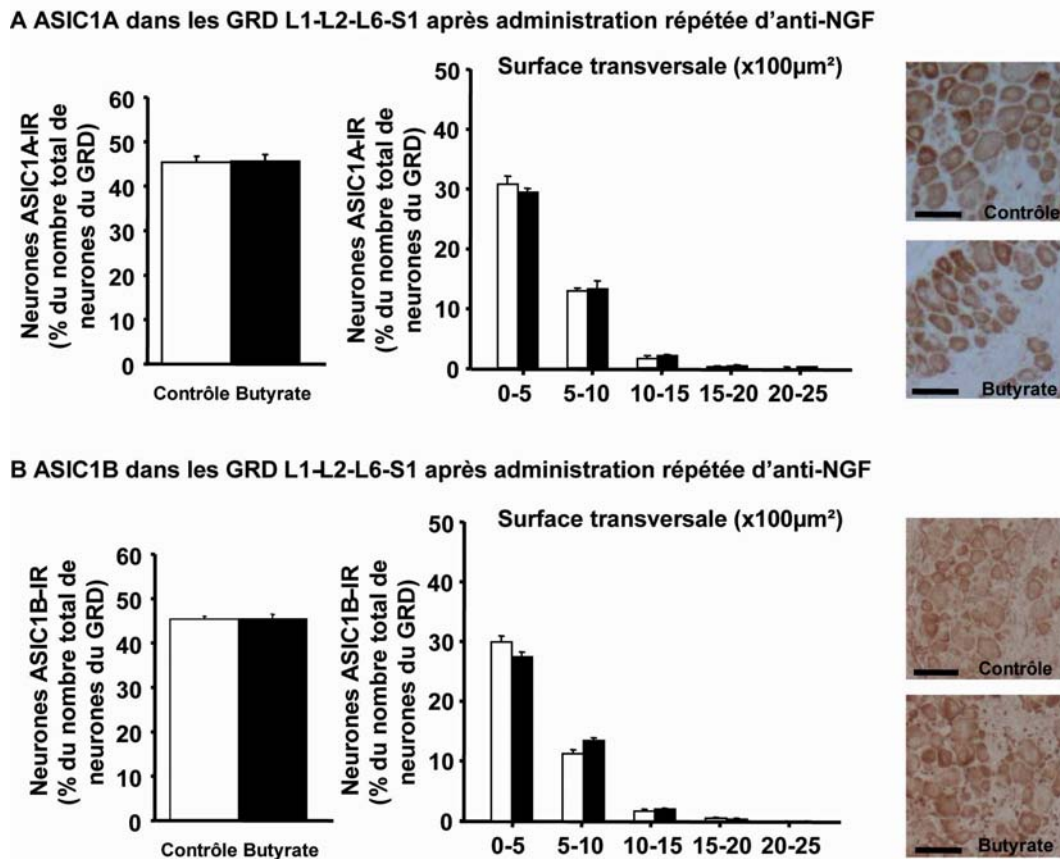


Figure 22. L'injection répétée d'anticorps anti-NGF prévient la sur-expression des protéines ASIC1 dans les GRD lombo-sacrés après induction de l'HSC. A la fin du traitement avec du butyrate ou du sérum physiologique (J3), concomitant avec les injections d'anticorps anti-NGF, le nombre de neurones immuno-réactifs (IR) pour les protéines ASIC1a et ASIC1b a été déterminé dans les GRD L1-L2-L6-S1 par immuno-histochimie. Aucune différence dans le nombre total de neurones ASIC1a-IR ou ASIC1b-IR n'a été observée chez les rats traités avec du butyrate en comparaison avec les contrôles traités avec du sérum physiologique. Il n'y avait pas non plus de différence dans la distribution des neurones ASIC1a-IR ou ASIC1b-IR en fonction de la taille du corps cellulaire. Pour chaque traitement (butyrate *versus* saline), au moins 450 cellules ont été mesurées. Les données sont exprimées comme la moyenne \pm SEM, $n=4$ par groupe. Echelle = 100µm.

La quantification de l'expression de la protéine ASIC1a a aussi été réalisée par Western blot et rapporte une augmentation de 35% de la quantité de protéine ASIC1a ($p<0,05$) dans les GRD L1-L2-L6-S1 des rats traités avec du butyrate en comparaison avec les rats traités avec du sérum physiologique. Le traitement anti-NGF a prévenu cette surexpression (Figure 23).

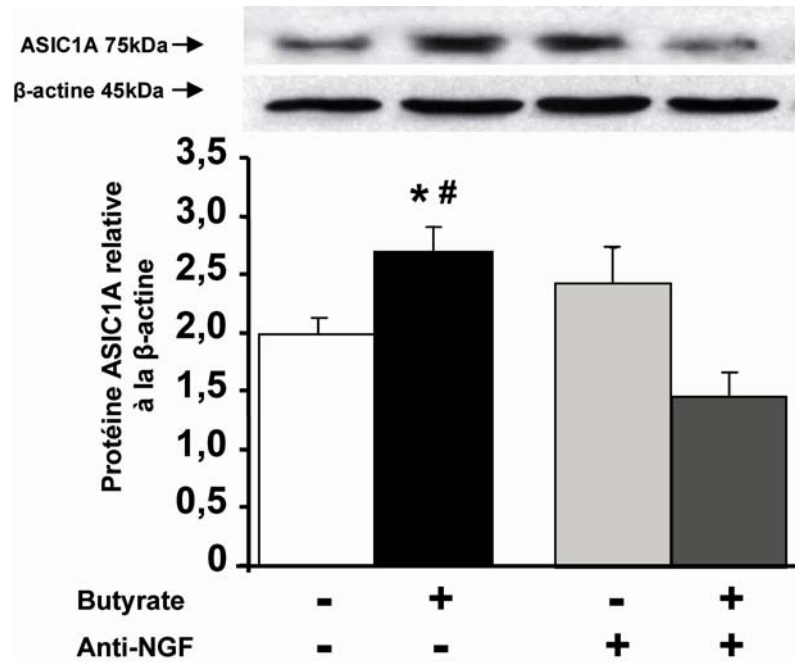


Figure 23. Les anticorps anti-NGF préviennent la sur-expression de la protéine ASIC1a dans les GRD lombo-sacrés après l'induction de l'HSC. Le Western blot a été réalisé sur les GRD L1-L2-L6-S1 prélevés à J3. Les injections d'anti-NGF ou d'IgG non spécifiques ont été réalisées concomitamment au traitement avec du butyrate ou du sérum physiologique. Toutes les expérimentations ont été faites en triplicat. Chez les rats ayant reçus les anticorps non spécifiques, l'intensité de la protéine ASIC1a, normalisée avec la β-actine, est augmentée significativement chez les rats traités avec du butyrate comparés aux contrôles. Avec l'anti-NGF, l'expression de ASIC1a n'est pas modifiée significativement. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ butyrate *versus* contrôle, # $p < 0,05$ anti-NGF *versus* IgG, $n = 4-5$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

L'effet anti-hyperalgique de l'administration systémique d'anticorps anti-NGF, qui ne franchissent pas la barrière hémato-encéphalique, lors du test de DCR nous a permis de montrer que le mécanisme de l'HSC induite par le butyrate dépend d'un effet périphérique du NGF.

La baisse de pH colique luminal et muqueux associée au traitement avec le butyrate pourrait être la cause de la sensibilisation colique via l'activation de canaux sensibles à l'acide. L'effet anti-hyperalgique de l'administration systémique d'un antagoniste des canaux ASIC (amiloride) mais pas des récepteurs TRPV1 (capsazepine) lors du test de DCR nous a permis de montrer que le mécanisme de l'HSC induite par le butyrate dépend des canaux sensibles aux protons de type ASIC.

L'absence de variation de l'expression du NGF et de ASIC1a dans le côlon des rats traités avec du butyrate suggère que les changements neuro-plastiques responsables des phénomènes de sensibilisation périphérique ne s'effectuent pas au niveau des terminaisons libres coliques, mais probablement plutôt au niveau de la 1ère synapse centrale entre les axones des neurones sensoriels et les neurones dorsaux de la MEp où l'amiloride pourrait inhiber la transmission du message nociceptif en bloquant les ASIC.

Ainsi, nous avons pu mettre en évidence par qRT-PCR et par IHC que l'expression du NGF est augmentée dans les GRD recevant une innervation colique. Nous avons également montré par PCR semi-quantitative et par IHC que l'expression de la sous-unité ASIC1a est augmentée dans les GRD recevant une innervation colique. L'étude de la proportion de neurones sensoriels exprimant le canal ASIC1a en fonction de la taille des somas a permis de montrer que la sur-expression de la protéine ASIC1a est restreinte aux neurones sensoriels de petit diamètre (nocicepteurs). La microscopie confocale indique que le canal ASIC1a est colocalisé avec le NGF et son récepteur trkA dans les neurones sensoriels, et notamment ceux exprimant le CGRP. Cette observation indique que l'activation de voies de transduction du NGF est possible dans les nocicepteurs exprimant ASIC1a. De plus, les analyses moléculaires ont montré que le NGF module l'expression de ASIC1a puisque l'administration répétée d'anticorps anti-NGF prévient la sur-expression de ASIC1a, quantifiée par qRT-PCR, par IHC et par WB, dans les nocicepteurs des rats traités avec du butyrate.

L'existence d'une modulation positive de ASIC1a par le NGF dans l'élément pré-synaptique (neurone sensoriel nociceptif) de la 1ère synapse centrale pourrait donc être à l'origine d'une stimulation excessive des neurones nociceptifs de la corne dorsale de la MEp et constituerait donc une base moléculaire de l'HSC dans le modèle butyrate.

B. Mécanismes centraux de l'HSC

B.I. Hyper-activation de la MEp dans l'HSC

Les mécanismes spinaux impliqués dans l'HSC dans le SII sont encore mal connus (Azpiroz et al., 2007). Des mécanismes segmentaires locaux au sein de la MEp lombo-sacrée (Verne et al., 2001) et un défaut dans les voies inhibitrices descendantes (Porreca et al., 2002; Berman et al., 2008) ont été associés à l'HSC chez des patients atteints de SII et suggèrent qu'une sensibilisation spinale est impliquée dans la physio-pathologie du SII.

Les modèles animaux d'HSC ont fourni une voie alternative pour évaluer directement la plasticité neuronale dans la MEp lors d'états douloureux. En particulier, l'immuno-marquage de la protéine Fos est utilisé communément en tant que reflet de l'activation des neurones et de la plasticité dans la MEp chez des rats présentant une inflammation colique expérimentale et soumis à la DCR (Traub and Murphy, 2002; Birder et al., 2003; Eijkelkamp et al., 2007). Ces études ont rapporté que les états inflammatoires viscéraux se traduisent par une augmentation de l'activité des neurones spinaux dans la MEp lombaire et lombo-sacrée. L'inflammation viscérale peut aussi s'accompagner d'un recrutement des segments thoraciques de la MEp (Traub, 2000; Traub and Murphy, 2002). Cependant, ces résultats ne sont pas extrapolables à la physio-pathologie du SII en raison de ses caractéristiques non inflammatoires. Par conséquent, la méthodologie Fos a été utilisée dans le modèle butyrate de SII qui a la particularité d'induire une HSC en l'absence d'inflammation (Bourdu et al., 2005) afin d'évaluer l'excitabilité de la MEp dans un état d'HSC non inflammatoire.

Les rats ont subi une DCR nocive prolongée et l'expression de la protéine Fos a été quantifiée par immuno-histo-chimie dans les segments spinaux thoraciques T8 à T13, lombaires L1 à L6 et sacré S1, 2h après le début de la procédure de DCR, ce qui correspond au moment où l'expression de la protéine Fos est maximale (Kovacs, 2008). Deux nouveaux lots de rats ont été utilisés pour étudier l'effet de la DCR nocive prolongée sur l'expression de Fos. Le premier lot a été traité avec du butyrate (n=10) et le deuxième lot (n=10) a été traité avec du sérum physiologique comme contrôle. Les rats (n=5 par

groupe) ont été distendus à 80mmHg (30s on, 90s off, 45 cycles). Les rats "sham" (n=5 par groupe) n'ont pas été distendus mais ont été anesthésiés, équipés avec le ballonnet de DCR et placés pendant 90mn dans les mêmes conditions que les rats distendus afin de constituer des contrôles pour la procédure de DCR

B.I.1. Modification de l'expression basale de Fos

L'expression spinale de la protéine Fos chez les rats contrôles sham a été considérée comme le reflet de l'activité basale de la moëlle épinière (Kovacs, 2008). L'activité neuronale basale (densité de noyaux Fos immuno-réactifs Fos-IR chez les animaux sham) est supérieure chez les rats traités avec du butyrate à celle des rats traités avec du sérum physiologique dans les segments thoraciques T10 (+75%, $p<0,01$), T11 (+184%, $p<0,001$) et T12 (+78%, $p<0,001$). A l'inverse, la densité de noyaux Fos-IR est plus faible dans les segments lombo-sacrés L6-S1 et, dans une moindre mesure, dans les segments lombaires L1-L2 des rats sham traités avec du butyrate comparés aux rats sham traités avec du sérum physiologique (L1= -27%, $p=0,10$; L2= -55%, $p=0,06$; L6= -86%, $p<0,001$; S1= -60%, $p=0,06$) (Tableau III).

B.I.2. Recrutement de la MEp thoracique dans l'HSC

La DCR nocive répétée a induit une augmentation significative de la densité des noyaux Fos-IR dans les segments spinaux T10-T11-T12, L1-L2 et L6-S1 des rats traités avec du butyrate (Figure 24).

Les rats distendus traités avec du butyrate présentent une augmentation de l'expression de Fos dans les couches superficielles de la corne dorsale en T10 (+37%, $p<0,05$), T11 (+66%, $p<0,001$), T12 (+46%, $p<0,001$), L1 (+29%, $p<0,05$), L2 (+202%, $p<0,01$), L6 (+305%, $p<0,01$) et S1 (+128%, $p<0,05$) en comparaison avec les rats butyrate sham (Tableau III).

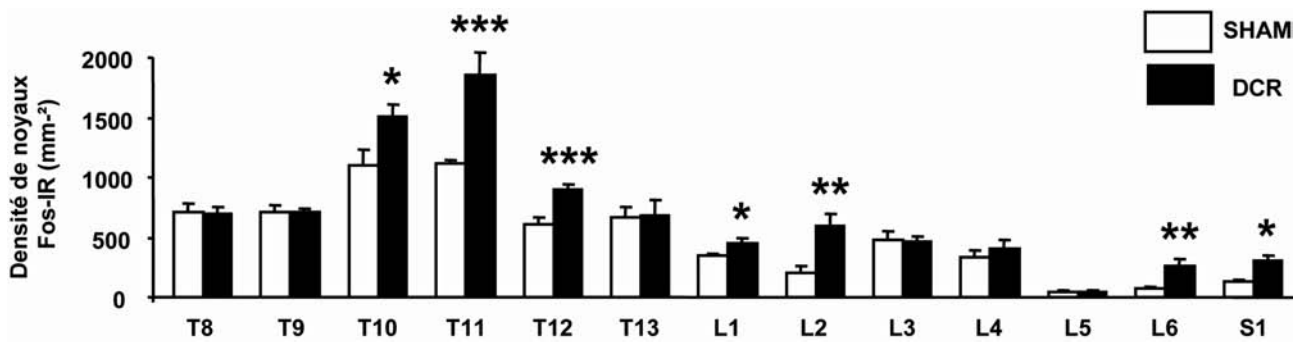


Figure 24. La DCR douloureuse prolongée augmente la densité de protéines Fos-IR dans les segments spinaux thoraciques, lombaires et lombo-sacrés des animaux ayant une HSC induite par le butyrate. Le marquage Fos a été réalisé par immuno-histochimie à la fin du traitement avec du butyrate (J3). La densité de neurones Fos-IR (nombre de noyaux/mm²) a été déterminée dans les couches superficielles de la MEp dorsale 2h après le début de la procédure de DCR nocive prolongée. La densité de noyaux Fos-IR est augmentée significativement dans les segments spinaux T10, T11, T12, L1, L2, L6 et S1 des animaux distendus en comparaison avec les animaux sham. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, DCR *versus* sham, $n=3-5$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Bonferroni.

Dans le but de déterminer quels sont, parmi les segments spinaux activés par la DCR nocive répétée dans le modèle butyrate, ceux qui sont également activés par la DCR nocive répétée chez les animaux sains, l'expression de Fos dans les segments T10, T11, T12, L1, L2, L6 et S1 a été étudiée dans le groupe contrôle traité avec le sérum physiologique. En comparaison avec les animaux sham, les rats distendus traités avec le sérum physiologique présentent une expression de Fos augmentée dans les segments L1 (+52%, $p<0,01$), L2 (+62%, $p<0,05$), L6 (+40%, $p<0,05$) et S1 (+85%, $p<0,05$). De façon surprenante, aucun changement n'a été observé dans les segments spinaux T10 (+21%, $p=0,31$), T11 (-11%, $p=0,74$) et T12 (+8%, $p=0,64$) ce qui suggère que l'activation thoracique durant la DCR nocive répétée est spécifique de la condition butyrate (Tableau III).

La densité de neurones *spécifiquement* activés par la procédure de DCR nocive répétée a été calculée en soustrayant la densité de noyaux Fos-IR chez les animaux sham de la densité de noyaux Fos-IR chez les animaux distendus. L'immuno-réactivité Fos évoquée par la DCR est similaire dans les segments spinaux lombo-sacrés L1-L2-L6-S1 des rats traités avec le butyrate et avec le sérum physiologique (*cf.* diagrammes de droite sur la Figure 25). De façon contrastée, malgré une densité basale élevée de la protéine Fos dans les segments spinaux thoraciques des animaux sham (Tableau III), la DCR répétitive nocive a évoqué une augmentation franche de l'activation neuronale chez les rats traités avec du butyrate (*cf.* diagrammes de droite sur la Figure 25).

A. Nombre moyen de noyaux Fos-IR comptés dans chaque segment spinal				
Segment spinal	Contrôle		Butyrate	
	Sham	DCR	Sham	DCR
T10	26,1±3,8	25,1±1,8	54,6±7,3	74,4±4,8
T11	19,4±1,6	16,7±0,9	63,7±4,7	105,1±12,3
T12	17,5±0,8	19,4±2,0	33,3±1,4	58,4±5,6
L1	27,1±3,3	41,1±2,6	42,4±2,7	66,4±7,4
L2	35,9±4,7	50,9±7,2	28,2±5,9	92,4±9,6
L6	27,9±4,9	48,9±7,4	4,4±1,8	15,75±2,12
S1	19,3±4,1	41,6±6,6	8,6±0,4	18,6±3,9

B. Densité moyenne de noyaux Fos-IR comptés dans chaque segment spinal				
Spinal segment	Contrôle		Butyrate	
	Sham	DCR	Sham	DCR
T10	631±83,4	768±67,8	1105±132,2##	1514±96,5*#
T11	397±32,4	353±19,6	1118±30,4###	1861±241,6***##
T12	343±12,9	369±46,1	611±48,5###	894±43,8***##
L1	478±79,6	726±52,2**##	350±15,2	452±39,7*
L2	433±80,9	699±53,8*##	197±57,5	595±102,9**
L6	463±33,2###	649±68,4*##	65±27,2	265±48,0**
S1	336±26,3	622±107,9*##	135±8,2	307±42,1*

Tableau III. Densité de noyaux immuno-réactifs pour Fos dans les couches superficielles de la MEp après DCR douloureuse prolongée. Le marquage Fos a été réalisé par immuno-histochimie à la fin du traitement avec du butyrate ou du sérum physiologique (J3). La table A présente le nombre de noyaux Fos-IR comptés dans chaque condition. Afin d'homogénéiser les comptages et de faciliter la comparaison de l'expression de Fos entre les segments spinaux, qui ont des tailles différentes, nous avons décidé d'exprimer les données en densité de noyaux Fos-IR (nombre de noyaux Fos-IR/mm²) dans la table B. La densité de neurones Fos-IR a été déterminée dans les couches superficielles de la MEp dorsale 2h après le début de la procédure de DCR nocive prolongée. * définit une différence statistiquement significative entre le groupe sham et le groupe distendu pour chaque segment spinal (thoracique T, lombaire L ou sacré S). # définit une différence statistiquement significative entre le groupe traité avec du butyrate et le groupe contrôle traité avec du sérum physiologique dans les segments spinaux T, L ou S. Les données sont exprimées comme la moyenne ± SEM. ##*p<0,05, ###**p<0,01, ####***p<0,001, n=6-20 coupes par segment spinal, n=3-5 animaux par groupe, two-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Bonferroni.

Des cellules marquées ont aussi été observées autour du canal central (lamina X) et dans les laminae V-VII qui reçoivent des fibres afférentes viscérales. Conformément à la procédure de DCR et à l'introduction mécanique du ballon de distension, qui provoque la distension et l'étirement des muscles abdominaux, des motoneurones Fos-IR ont été observés dans la corne ventrale.

Un nombre relativement élevé de noyaux Fos-IR a été trouvé chez les animaux sham. Cette observation rend probablement compte de la longue durée d'enfermement (90mn) de ces rats dans la cage d'expérimentation pendant la procédure de DCR qui est une cause de stress aigu. Le stress est un facteur majeur pouvant induire l'expression de Fos dans le cerveau et la MEp (Kovacs, 1998). Ce résultat confirme donc la nécessité d'un groupe contrôle pour la procédure de DCR afin de prendre en considération les biais résultant de l'induction de l'expression de Fos par le stress.

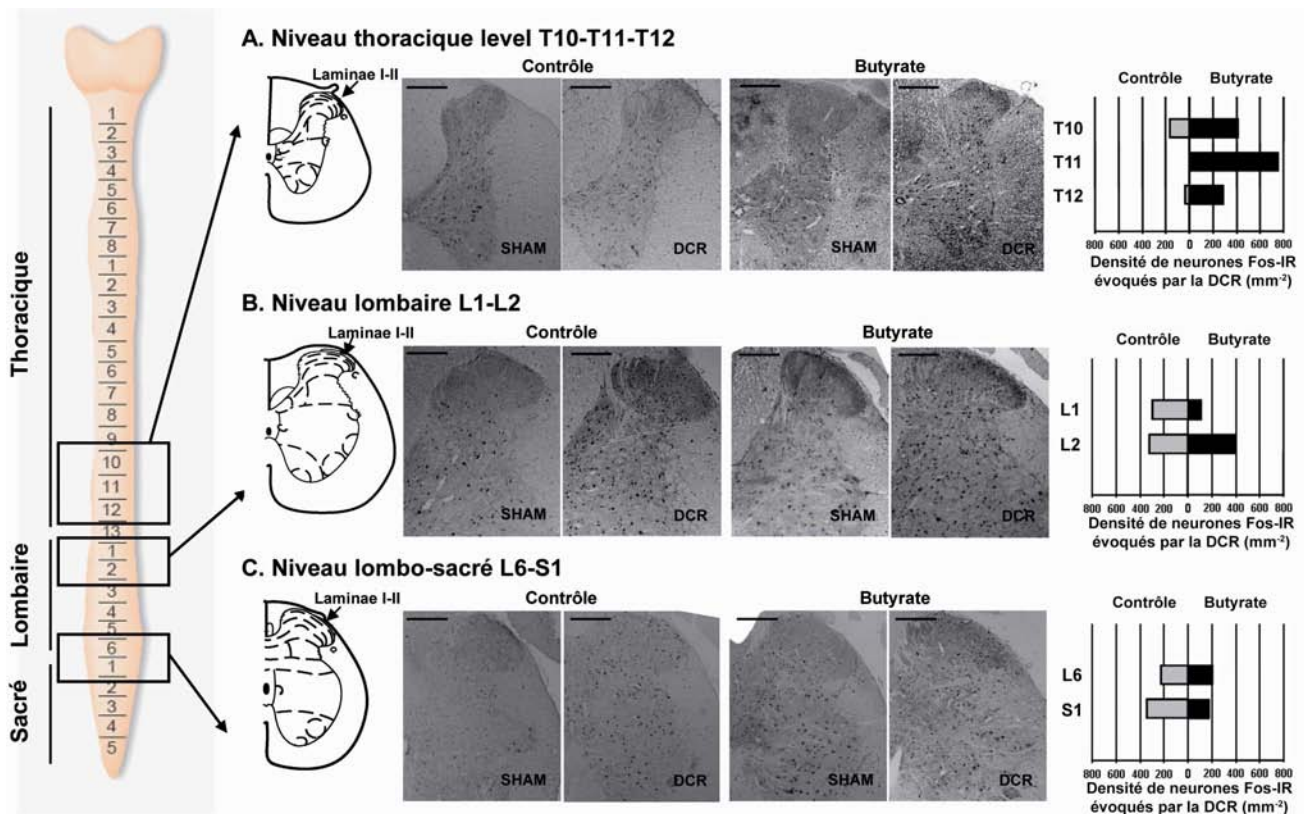


Figure 25. La DCR nocive répétée évoque spécifiquement l'expression de la protéine Fos dans la MEp thoracique des rats ayant une HSC induite par le butyrate. A J3, l'expression de la protéine Fos a été quantifiée dans les couches superficielles (laminae I-II) des MEp thoracique (A), lombaire (B) et lombo-sacrée (C), 2h après le début de la procédure de DCR nocive prolongée. Les photographies des sections coronales montrent la distribution des noyaux Fos-IR chez les rats distendus et sham traités avec du butyrate ou du sérum physiologique. Les diagrammes de droite représentent la densité de neurones dans lesquels l'expression Fos est spécifiquement évoquée par la DCR nocive répétée. La densité (D) de neurones Fos-IR évoquée par la DCR a été calculée comme suit : $D = (\text{densité de noyaux Fos-IR chez les rats distendus}) - (\text{densité de noyaux Fos-IR chez les rats sham})$. La densité de noyaux Fos-IR (nombre de noyaux/mm²) est augmentée par la DCR nocive répétée dans les segments spinaux L1, L2, L6 et S1 aussi bien des rats traités avec du butyrate (barres noires) que des rats contrôles traités avec du sérum physiologique (barres grises). En revanche, l'augmentation de la densité de Fos dans les segments T10, T11 et T12 est spécifique des rats traités avec du butyrate. Echelle = 600µm.

B.II. Implication centrale des ASIC

Les résultats concernant les mécanismes périphériques de l'HSC induite par le butyrate ont permis de mettre en évidence l'implication des canaux ASIC dans la nociception viscérale, en accord avec les nombreuses études montrant le rôle des canaux ASIC, et en particulier ASIC3, dans la perception, la mécano-perception et la nociception viscérales (Page et al., 2004; Jones et al., 2005; Page et al., 2005; Page et al., 2007; Wultsch et al., 2007). En revanche, aucune équipe n'a étudié le rôle des ASIC dans la transmission *spinale* du message douloureux viscéral. Les isoformes ASIC sont exprimées dans la corne dorsale de la MEp où ils contribuent aux courants élicités par la douleur (Wu

et al., 2004; Baron et al., 2008). De plus, le canal ASIC1a est sur-exprimé dans les neurones de la corne dorsale dans un modèle de douleur inflammatoire articulaire chez le rat (Duan et al., 2007).

L'hypothèse que les canaux ASIC de la MEp contribuent à la plasticité spinale dans le modèle de SII induit par le butyrate a donc été testée.

B.II.1. Prévention de l'HSC par l'antagoniste PcTx1

Afin de déterminer si le canal ASIC1a contribue à la transmission du message nociceptif viscéral dans la moëlle épinière des rats avec une HSC, les rats traités avec du butyrate ont été injectés avec de la PcTx1, un bloqueur sélectif des ASIC1a par voie intra-thécale et soumis à une DCR continue de 0 à 80mmHg.

Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. Des rats traités avec du butyrate (n=8 par groupe) ont reçu une administration de véhicule (sérum physiologique) ou de PcTx1 (antagoniste des canaux ASIC1a, à la dose de 40 ou 80µg/rat, don du Pr. Michel Lazdunski) par voie intra-thécale dans le renflement lombaire de la MEp 15mn avant le test de DCR.

L'injection de PcTx1 a significativement augmentée les seuils de douleur à la DCR d'une pression de 45 ± 3 mmHg (véhicule) à 60 ± 6 mmHg (dose de 40µg/kg, $p < 0.05$) et 63 ± 3 mmHg (dose de 80µg/kg, $p < 0.001$) chez les rats traités avec du butyrate (Figure 26).

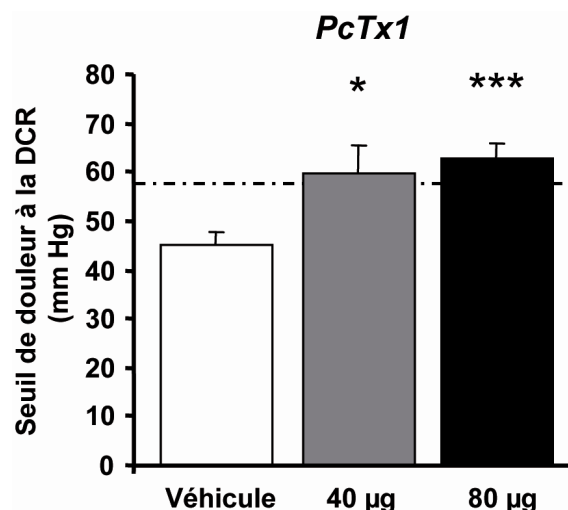


Figure 26. L'injection centrale de PcTx1 diminue l'hypersensibilité colique dans le modèle butyrate de SII. A la fin du traitement (J3), l'effet de la PcTx1 (antagoniste ASIC1a, 40 and 80 µg/rat, voie i.t.) sur les seuils de douleur à la DCR a été évalué. Les instillations rectales de butyrate induisent une HSC chez les rats (véhicule) par rapport aux rats contrôles traités avec du sérum physiologique (ligne pointillée). L'administration centrale de PcTx1 prévient complètement l'HSC induite par le butyrate dès la dose de 40µg. Les données sont exprimées comme la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ butyrate versus contrôle, n=8 par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Bonferroni.

B.II.2. Co-expression de ASIC1a et de Fos

En raison de la nature peptidique de la toxine de mygale PcTx1, l'injection a été faite par voie intra-thécale dans la MEp lombaire. Nous avons donc voulu déterminer si l'effet de la PcTx1 pouvait être en partie dû à l'inhibition de canaux ASIC1a sur-exprimés dans la moëlle épinière lombaire de rats présentant une HSC induite par le butyrate.

La quantité d'ARNm du gène ASIC1a relative à celle des ARNm du gène de référence HPRT a été évaluée par PCR quantitative (SYBR Green) dans le renflement lombaire de la moëlle épinière. Les renflements lombaires de la MEp ont été prélevés sur le lot ayant servi à obtenir les GRD lombo-sacrés pour la PCR (*cf.* paragraphe A.I.2.a) dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (J3, n=4-5 par groupe). Le niveau d'expression des ARNm ASIC1a a ensuite été déterminé par PCR quantitative. Le niveau d'expression des ARNm ASIC1a est augmenté de 61% ($p < 0,05$) chez les rats butyrate en comparaison avec les rats contrôles traités avec du sérum physiologique (Figure 27A). L'expression de la protéine ASIC1a a été quantifiée par Western blot. Les renflements lombaires de la MEp ont été prélevés sur le lot ayant servi à obtenir les GRD lombo-sacrés pour le Western blot (*cf.* paragraphe A.II.2.c) dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (J3, n=4-5 par groupe). L'expression de ASIC1a est augmentée de façon non significative (+37%, $p = 0,27$) dans la MEp des rats traités avec du butyrate en comparaison des rats contrôles (Figure 27B).

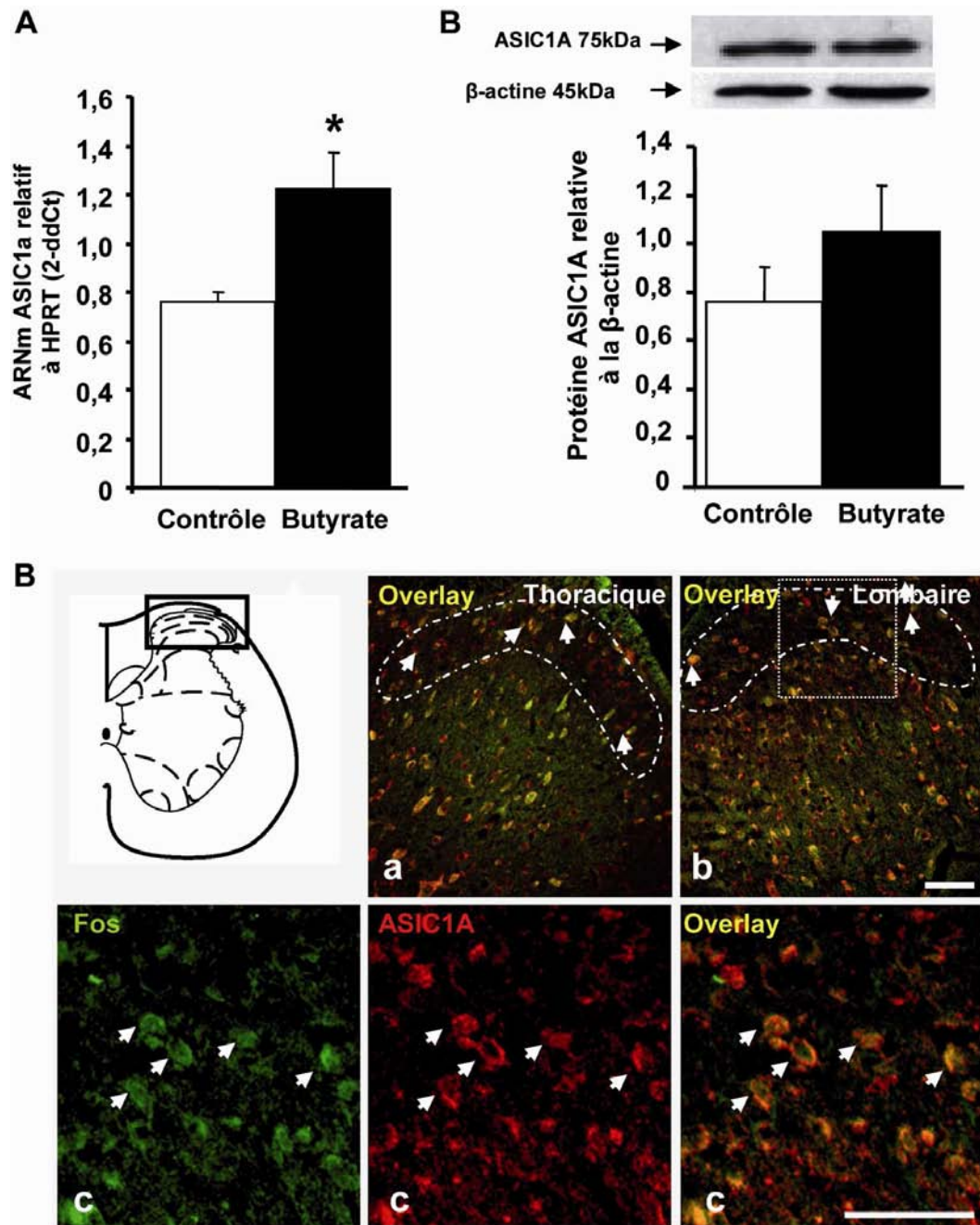


Figure 27. Co-expression du canal ASIC1a et de la protéine Fos dans la MEp des rats présentant une HSC induite par le butyrate. La PCR quantitative et le Western blot ont été réalisés sur les échantillons de renflement lombaire de MEp dorsale obtenus à la fin du traitement au butyrate (J3). Toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicat. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ butyrate *versus* contrôle, $n = 4-5$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls. (A) Le niveau d'expression des ARNm du gène ASIC1a est significativement augmenté de 61% dans les GRD lombo-sacrés chez les rats traités avec du butyrate comparés avec les rats contrôles. La quantité d'ARNm du gène ASIC1a est relative à celle du gène HPRT. (B) L'expression de la protéine ASIC1a est augmentée dans la MEp dorsale des rats butyrate comparés aux contrôles. L'intensité de la protéine ASIC1a a été normalisée par rapport à celle de la protéine β-actine. (C) Les protéines Fos et ASIC1a sont co-localisées dans les neurones des couches superficielles de la corne dorsale de la MEp. Les photographies en fluorescence montrent la superposition (overlay, jaune) des marquages des protéines Fos et ASIC1a dans la MEp thoracique (a) et lombaire (b) de rats traités avec du butyrate et soumis à la DCR nocive prolongée. La superposition (overlay, jaune) entre Fos (vert) et ASIC1a (rouge) est représentée en (c). Les flèches blanches indiquent les neurones avec un double-marquage. Le carré blanc dans l'image (b) indique les neurones observés à un plus fort grossissement dans les images (c). Echelle = 100µm.

Ces résultats indiquent que le canal ASIC1a spinal est bien associé à l'HSC induite par le butyrate. De plus, la double immuno-fluorescence réalisée sur les MEp des rats distendus (*cf.* paragraphe B.I) a permis de montrer que, après DCR nocive répétée, tous les neurones activés et exprimant la protéine Fos dans les couches superficielles de la moëlle épinière expriment également le canal ASIC1a. Les protéines Fos et ASIC1a sont colocalisées dans les moëlle épinière thoracique et lombaire des rats traités avec du butyrate (Figure 27C) et des rats traités avec du sérum physiologique (données non présentées).

B.III. Autres molécules potentiellement impliquées au niveau central

B.III.1. Autres isoformes ASIC

Pour déterminer si les autres sous-unités ASIC que ASIC1a pourraient aussi participer à l'HSC dans le modèle butyrate, le niveau d'expression des ARNm des gènes ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b et ASIC3 a été évalué dans le modèle butyrate par RT-PCR semi-quantitative dans la MEp dorsale. Les renflements lombaires de la MEp ont été prélevés sur le lot ayant servi à obtenir les GRD lombo-sacrés pour la PCR (*cf.* paragraphe A.II.2.a) dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (J3, n=4-5 par groupe). Le niveau d'expression des ARNm ASIC1a, ASIC2a et ASIC2b est augmenté chez les rats traités avec du butyrate (ASIC1a: +40%, $p<0,01$; ASIC2a: +45%, $p<0,05$ et ASIC2b: +33%, $p<0,05$) comparés aux contrôles. Les ARNm ASIC1b et ASIC3 n'ont pas été détectés (Figure 28).

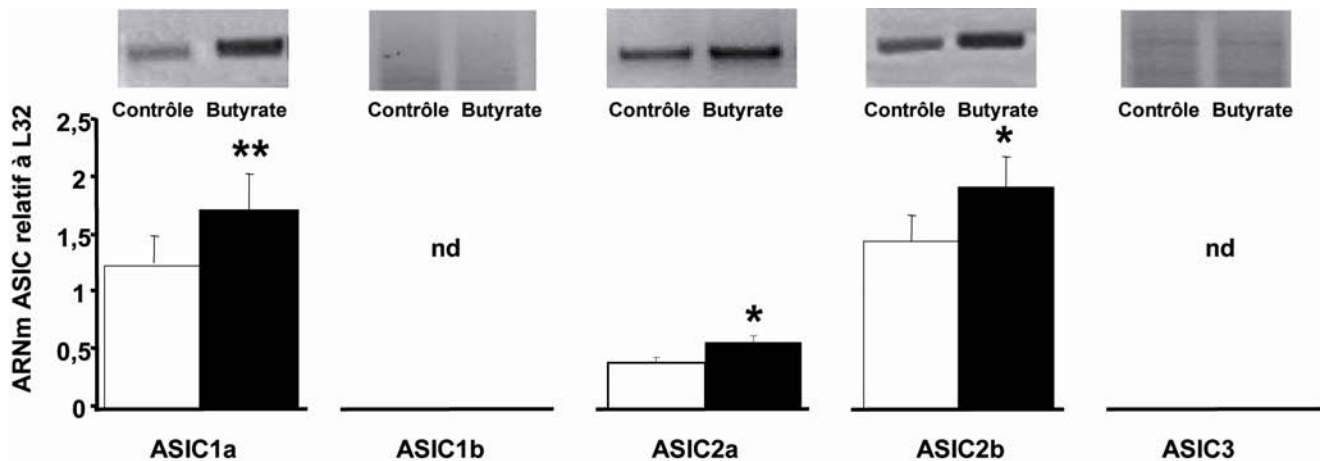


Figure 28. Le niveau d'expression des ARNm des gènes ASIC1a, ASIC2a et ASIC2b est augmenté dans la MEp lombaire après l'induction de l'HSC par le butyrate. La RT-PCR semi-quantitative a été réalisée sur la partie dorsale du renflement lombaire de la MEp, prélevée à la fin du traitement au butyrate (J3). Toutes les expériences ont été faites en triplicat. L'intensité des produits PCR ASIC a été normalisée par rapport à celle de l'ARN ribosomal L32. Les ARNm des sous-unités ASIC1a, ASIC2a et ASIC2b sont significativement augmentés chez les rats traités avec du butyrate comparés aux rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Les ARNm ASIC1b et ASIC3 n'ont pas été détectés. Les données sont exprimées comme la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ butyrate *versus* contrôle, $n = 4-5$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls. nd = non détecté.

B.III.2. Implication centrale du NGF

B.III.2.a. Expression du gène NGF dans la MEp

La quantité d'ARNm du NGF relative à celle des ARNm du gène de référence HPRT a été évaluée par PCR quantitative (SYBR Green) dans le renflement lombaire de la moëlle épinière. Les renflements lombaires de la MEp ont été prélevés sur le lot ayant servi à obtenir les GRD lombo-sacrés pour la PCR (*cf.* paragraphe A.I.2.a) dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (J3, $n = 4-5$ par groupe). Une forte variabilité mais aucune différence n'est observée dans les différents groupes d'animaux traités avec du butyrate ou du sérum physiologique (Figure 29).

B.III.2.b. Modulation de l'expression de ASIC1 par le NGF

Le traitement anti-NGF prévient la sur-expression des ARNm ASIC1a dans la MEp

La quantité d'ARNm du gène ASIC1a relative à celle des ARNm du gène de référence HPRT a été évaluée par PCR quantitative dans le renflement lombaire de la moëlle épinière de rats injectés avec des anticorps anti-NGF pendant la durée du

traitement au butyrate Les renflements lombaires de la MEp ont été prélevés sur le lot ayant servi à obtenir les GRD lombo-sacrés pour la PCR (cf. paragraphe A.III.2) dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (J3, n=4-5 par groupe).. L'augmentation du niveau d'expression des ARNm ASIC1a (cf. Figure 27) chez les rats butyrate par rapport aux rats contrôles est prévenue par l'injection répétée d'anticorps anti-NGF (Figure 30).

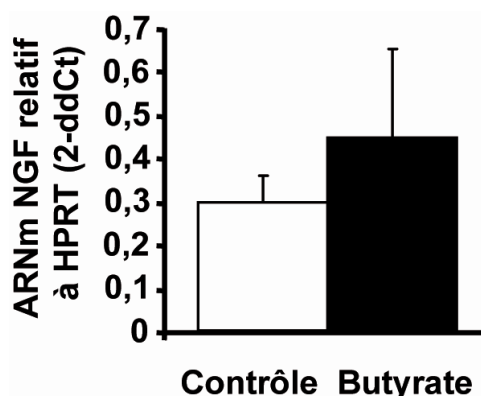


Figure 29. Le niveau d'expression des ARNm du gène NGF est inchangé dans la MEp lombaire après l'induction de l'HSC par le butyrate. La PCR quantitative a été réalisée sur la partie dorsale du renflement lombaire de la MEp, prélevée à la fin du traitement au butyrate (J3). Toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicat. La quantité d'ARNm du gène NGF est relative à celle du gène HPRT. La quantité d'ARNm NGF spinale ne varie pas entre les rats traités avec du butyrate et les rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. n=4-5 par groupe.

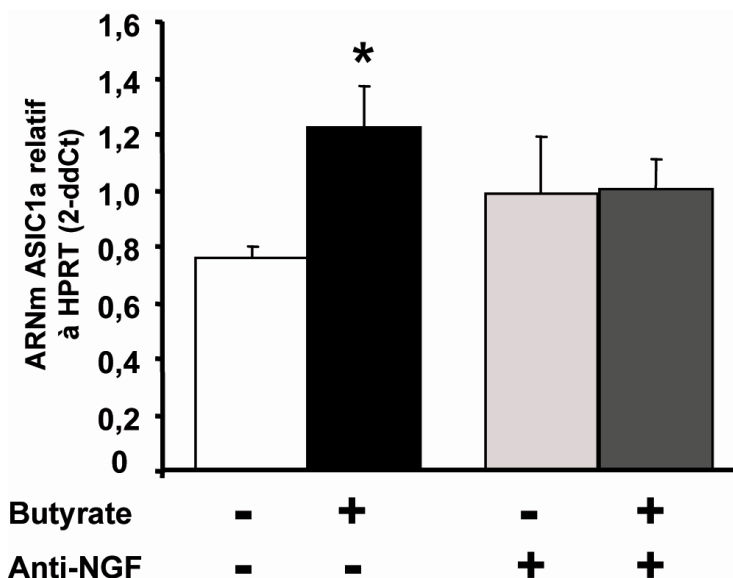


Figure 30. Le traitement répété par des anticorps anti-NGF prévient l'augmentation du niveau d'expression des ARNm du gène ASIC1a dans la MEp après induction de l'HSC par le butyrate. La PCR quantitative a été réalisée sur le renflement lombaire de la MEp obtenu à la fin du traitement au butyrate (J3). Les injections d'anti-NGF ou d'IgG non spécifiques ont été réalisées concomitamment au traitement avec du butyrate ou du sérum physiologique. Dans le groupe traité avec des anticorps anti-NGF, le niveau d'expression des ARNm du gène ASIC1a ne diffère pas entre les rats traités avec du butyrate et les rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicat. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ butyrate *versus* contrôle, n=4-5 par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

Le traitement anti-NGF prévient la sur-expression de la protéine ASIC1a dans la MEp

La quantification de l'expression de la protéine ASIC1a a été réalisée par Western blotting dans le renflement lombaire de la moëlle épinière de rats injectés avec des anticorps anti-NGF pendant la durée du traitement au butyrate. Les renflements lombaires de la MEp ont été prélevés sur le lot ayant servi à obtenir les GRD lombo-sacrés pour le Western blot (*cf.* paragraphe A.II.2.c) dans les rats traités avec du butyrate ou leurs contrôles traités avec du sérum physiologique (J3, n=4-5 par groupe). L'injection répétée d'anticorps anti-NGF prévient la légère augmentation de la quantité de protéine ASIC1a rapportée dans la moëlle lombaire des rats traités avec du butyrate (*cf.* Figure 27) en comparaison avec les rats traités avec du sérum physiologique (Figure 31).

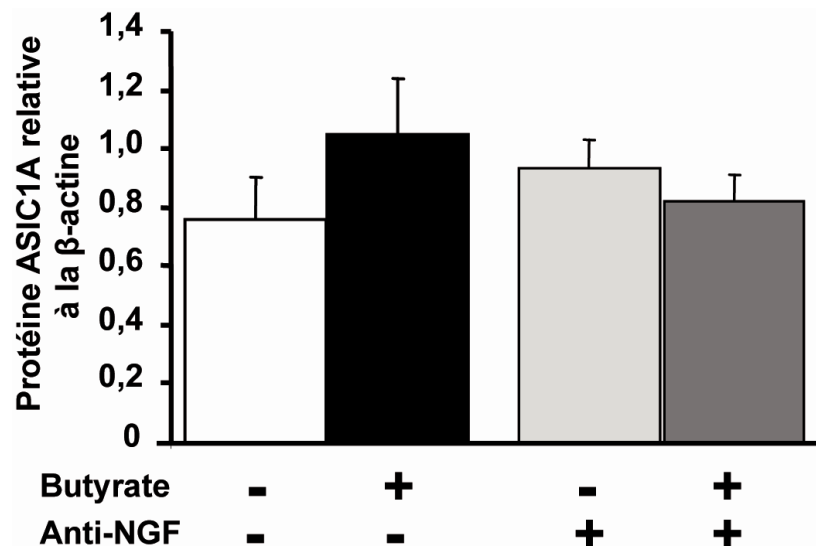


Figure 31. Le traitement répété par des anticorps anti-NGF prévient l'augmentation de l'expression de la protéine ASIC1a dans la MEp après induction de l'HSC par le butyrate. Le Western blot a été réalisé sur le renflement lombaire de la MEp obtenu à la fin du traitement au butyrate (J3). Les injections d'anti-NGF ou d'IgG non spécifiques ont été réalisées concomitamment au traitement avec du butyrate ou du sérum physiologique. Dans le groupe traité avec des anticorps anti-NGF, l'expression de la protéine ASIC1a ne diffère pas entre les rats traités avec du butyrate et les rats contrôles traités avec du sérum physiologique. Toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicat. Les données sont représentées comme la moyenne \pm SEM. n=4-5 par groupe.

B.III.3. Implication des canaux CaV3.2 et NALCN

Les canaux Cav3.2 sont impliqués dans l'HSC induite par le butyrate

Outre les canaux ASIC, de nombreuses conductances ioniques contribuent aux décharges neuronales. Parmi celles-ci, les canaux calciques dépendant du voltage ont la particularité de former les potentiels d'action mais aussi d'influencer fortement l'excitabilité

neuronale. En particulier, les canaux CaV3.2 de type T sont activés par de faibles dépolarisations (low voltage-activated channels, LVA) et contrôlent l'excitabilité (Huguenard, 1996; Chemin et al., 2002; Perez-Reyes, 2003). Avec l'identification des gènes CaV3, l'élimination génétique des isoformes des canaux de type T est possible à la fois par l'utilisation d'oligonucléotides anti-sens (Bourinet et al., 2005; Messinger et al., 2009) et par la création de souris déficientes pour les gènes codant les isoformes CaV3.1 et CaV3.2 (Chen et al., 2003; Choi et al., 2007; Na et al., 2008). L'utilisation de modulateurs des canaux de type T (Todorovic et al., 2001; Todorovic et al., 2004; Nelson et al., 2005; Nelson et al., 2007) a permis de montrer que le canal CaV3.2 de type T joue un rôle pro-nociceptif majeur *in vivo*. Ce rôle a été confirmé dans les douleurs somatiques par l'utilisation d'antisens CaV3.2 (Bourinet et al., 2005). Les canaux CaV3.2 constituent ainsi une bonne cible moléculaire dans le système nerveux pour le développement de composés analgésiques innovants (Bourinet and Zamponi, 2005; Shin et al., 2008; Zamponi et al., 2009). Par contre, le rôle des canaux de type T est longtemps resté inexploré dans la douleur viscérale. Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe d'Emmanuel Bourinet (Institut de Génomique Fonctionnelle, CNRS UMR5203, Montpellier, France), les canaux T de type CaV3.2 ont été impliqués dans l'HSC induite par le butyrate. Les canaux CaV3 sont exprimés dans les neurones coliques des rats traités avec du butyrate et participent à l'HSC puisque l'usage d'antagonistes (ethosuximide, mibéfadril) ainsi que d'oligonucléotides antisens des ARNm CaV3.2 reverse cette HSC. De plus, *in vitro*, le butyrate augmente la densité des courants CaV et la fréquence de décharges des neurones sensoriels en culture. Il favorise également l'insertion de CaV3.2 à la membrane des neurones des GRD (Figure 32, adaptée de Marger *et al.*, soumis).

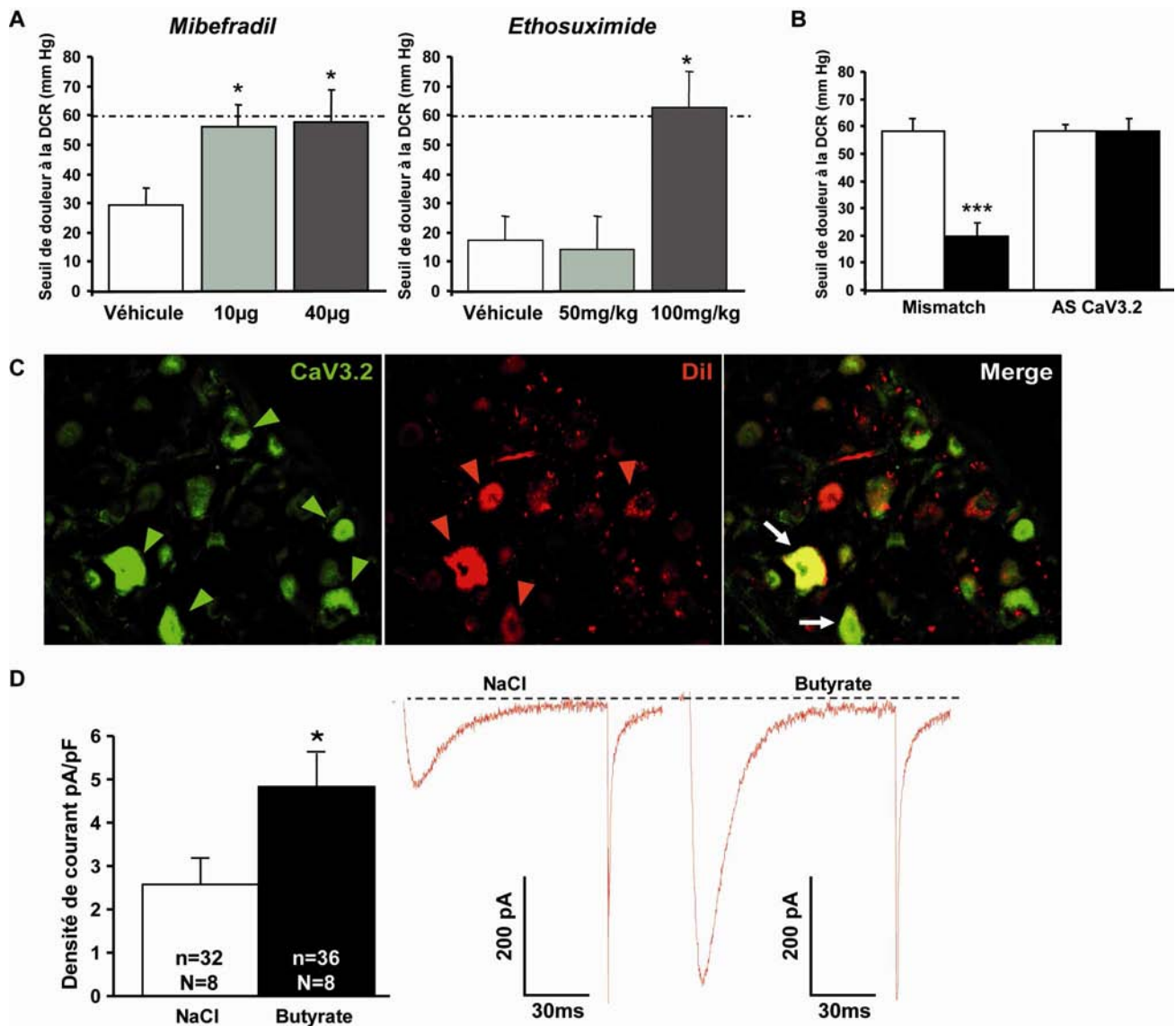


Figure 32. Implication du canal CaV3.2 dans l'HSC induite par le butyrate. L'évaluation de la sensibilité colique par DCR, l'immunofluorescence et les mesures électrophysiologiques sur culture de GRD ont été réalisées à la fin du traitement au butyrate (J3). Les données sont présentées comme la moyenne \pm SEM. (A et B) Les inhibiteurs de canaux calciques, le mibéfradil et l'éthosuximide, préviennent l'HSC induite par le butyrate. L'antisens CaV3.2 prévient l'HSC chez les rats traités avec du butyrate. * $p < 0,05$ véhicule versus drogue, *** $p < 0,001$ butyrate versus contrôle, $n = 6-8$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Bonferroni. (C) Le canal CaV3.2 est exprimé dans les afférences coliques identifiées par marquage rétrograde avec le Dil. (D) Les courants calciques à bas seuil (de type CaV3) sont augmentés dans les neurones coliques (Dil + neurones des GRD) des rats traités avec du butyrate. * $p < 0,05$ butyrate versus contrôle, $n = 8$ par groupe, $n = 32-36$ neurones enregistrés, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Student-Neuman-Keuls.

Prévention de l'HSC par l'administration d'oligonucléotides antisens de l'ARNm NALCN

Par ailleurs, la description d'une protéine (NALCN, sodium leak channel, non selective) qui présente une forte homologie avec les sous-unités α et $\alpha 1$ formant le pore des canaux calciques VGCC (Snutch and Monteil, 2007) et qui est impliquée dans l'excitabilité neuronale via un couplage avec les récepteurs M3 (Swayne et al., 2009) et NK (Lu et al., 2009) a ensuite conduit l'équipe d'Emmanuel Bourinet à s'intéresser à son

rôle dans la douleur viscérale.

Le rôle du canal sodique NALCN dans la transmission nociceptive viscérale médullaire a donc été exploré dans le modèle butyrate en analysant l'effet sur les seuils de sensibilité colique de l'administration intra-thécale d'oligonucléotides antisens de NALCN. La protéine NALCN, identifiée initialement comme une nouvelle sous-unité CaV3.2, a ainsi été présentée dans nos expérimentations sous le nom de α -1-j. Un nouveau lot de rats a été utilisé pour cette série expérimentale. Les seuils de douleur à la DCR ont été évalués après des administrations intra-thécales répétées d'oligonucléotides antisens de l'ARNm NALCN. Chez les animaux traités avec du butyrate, l'injection d'antisens a complètement prévenu le développement de l'HSC (54 ± 5 mmHg *versus* 37 ± 4 mmHg chez les animaux injectés avec l'antisens et avec le mismatch, respectivement ; $p < 0,05$). En revanche, les seuils de douleur à la DCR chez les rats traités avec du sérum physiologique ne varient pas après les injections (61 ± 4 mmHg *versus* 58 ± 2 mmHg chez les animaux injectés avec l'antisens et avec le mismatch, respectivement) (Figure 33).

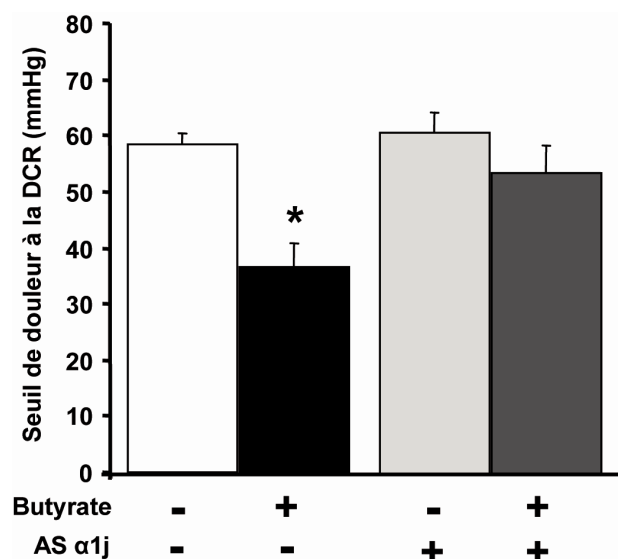


Figure 33. La neutralisation centrale des ARNm du gène NALCN (α 1j) diminue l'hypersensibilité colique dans le modèle butyrate de SII. A la fin du traitement (J3), l'effet des antisens (AS) des ARNm de du canal NALCN (α 1j) ($12,5 \mu\text{g}/\text{rat}$, voie i.t.) sur les seuils de douleur à la DCR a été évalué. Les injections d'AS α 1j ou d'oligonucléotide dégénéré (mismatch) ont été réalisées concomitamment au traitement avec du butyrate ou du sérum physiologique. L'injection du (mismatch) n'a pas d'effet puisque le rôle sensibilisant du butyrate est bien retrouvé par rapport aux rats contrôles. En revanche, l'administration centrale d'AS α 1j prévient l'HSC induite par le butyrate. Les données sont exprimées comme la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ butyrate *versus* contrôle, $n=8$ par groupe, one-way ANOVA suivie d'un test *post hoc* de Bonferroni.

L'étude de l'expression spinale de la protéine Fos chez des rats soumis à une DCR nocive répétée a montré que les rats traités avec du butyrate présentent une sensibilisation centrale. L'HSC induite par le butyrate s'accompagne du recrutement des segments thoraciques T10-T11-T12 de la MEp dans lesquels nous avons observé une hyper-activité basale et une hyper-réactivité neuronale en réponse à la distension.

L'effet anti-hyperalgique de l'administration intra-thécale d'un antagoniste des canaux ASIC1a (PcTx1) lors du test de DCR suggère que l'HSC induite par le butyrate dépend des canaux ASIC1a spinaux. Ces résultats indiquent que les canaux ASIC1a participent aux mécanismes centraux de l'HSC dans le modèle butyrate.

Ainsi, nous avons montré par RT-PCR et Western blot que l'expression du canal ASIC1a est augmentée dans la MEp. De plus, il est exprimé dans les neurones spinaux activés par la DCR où il est colocalisé avec Fos. ASIC1a pourrait donc participer à la transmission du message nociceptif viscéral dans la corne dorsale de la MEp. La sensibilisation centrale des synapses spinales pourrait impliquer d'autres canaux, en particulier les autres sous-unités ASIC, les canaux CaV3 et le canal NALCN. En effet, nous avons montré que les ARNm des gènes ASIC1a, 2a et 2b sont sur-exprimés dans la MEp des rats traités avec du butyrate. Par ailleurs, l'administration intra-thécale répétée d'oligonucléotides antisens bloquant la traduction des ARNm des sous-unités des canaux de type CaV3 ($\alpha 1g$, $\alpha 1h$ et $\alpha 1h$, expérimentations réalisées par l'équipe d'Emmanuel Bourinet, Marger et al. soumis) a un effet anti-hyperalgique sur l'HSC induite par le butyrate dans le test de DCR. De même, nous avons montré que le blocage de la traduction des ARNm codant le canal sodique NALCN prévient l'HSC. Ces résultats suggèrent que les canaux ASIC, CaV et NALCN pourraient amplifier la transmission du message douloureux viscéral. Tout comme à la périphérie, cette sur-expression pourrait être sous dépendance du NGF, probablement par un rôle au niveau de l'élément pré-synaptique de la synapse spinale. En effet, nos résultats montrent que le NGF est bien exprimé dans la MEp et que l'administration systémique répétée d'anticorps anti-NGF prévient la sur-expression des ARNm et de la protéine ASIC1a dans la MEp des rats traités avec du butyrate.

Discussion

CHAPITRE 5. DISCUSSION

Le travail rapporté dans ce mémoire de thèse montre que le développement d'une HSC suite à des lavements coliques de butyrate dépend de mécanismes impliquant le NGF et les canaux ASIC. Au niveau périphérique, nous avons observé une sur-expression du NGF et des canaux ASIC dans les GRD des animaux présentant une HSC. Le NGF est nécessaire à la sur-expression des ASIC dans les nocicepteurs. Au niveau central, nous avons montré qu'il existe une hyper-activité de la MEp et que cette sensibilisation spinale implique probablement le NGF et les canaux ASIC. Ces changements moléculaires traduisent l'existence d'une sensibilisation périphérique et centrale dans l'HSC induite par le butyrate. Ces phénomènes neuroplastiques impliquent le NGF qui, par sa capacité à moduler l'expression des canaux ASIC (et probablement d'autres canaux et récepteurs), pourrait initier la mise en place d'une facilitation synaptique dans la MEp et amplifier ainsi la transmission du message douloureux viscéral.

Après nous être interrogés sur la nature des mécanismes initiateurs de l'HSC dans le modèle butyrate, nous discuterons le rôle du NGF et des canaux ASIC dans les phénomènes de sensibilisation périphérique et centrale avant d'envisager des perspectives de recherche pour tester les hypothèses nées de nos résultats et pour continuer l'exploration des mécanismes de l'HSC.

A. Mécanismes initiateurs de l'HSC

A.I. Origine et rôle du butyrate dans l'HSC

Butyrate et homéostasie de la microflore colique

Le modèle butyrate est un modèle mimant les symptômes douloureux du SII et ses caractéristiques anatomo-pathologiques puisque les instillations répétées de butyrate ne sont associées à aucune déstructuration des parois coliques ni à aucune infiltration de

cellules immunitaires. C'est un modèle animal de SII peu invasif qui présente la particularité d'être un modèle nutritionnel puisque le butyrate est un métabolite issu de la fermentation des fibres alimentaires par les bactéries commensales. Les symptômes rencontrés dans le SII ont souvent été attribués en partie à des facteurs nutritionnels (Burden, 2001). De nombreux aliments (crucifères, alcool, aliments riches en fructose) et plus particulièrement les fibres alimentaires et leurs métabolites (acides gras à chaîne courte : butyrate, propionate et acétate) peuvent exacerber les symptômes des patients (Francis and Whorwell, 1994; Brandt et al., 2002) même si l'étude de nombreux essais cliniques n'a apporté aucune preuve définitive de leur implication (Floch, 2005). La digestion des fibres pourrait provoquer une sur-production de gaz lors de leur fermentation et/ou sensibiliser directement la muqueuse colique en produisant du butyrate comme le suggère le caractère sensibilisant de cet acide gras dans notre modèle de SII. Une augmentation des taux de butyrate a ainsi été observée au niveau du côlon chez des patients atteints du SII (Treem et al., 1996). Cependant, en l'absence d'association formelle entre des aliments particuliers, la production excessive de butyrate colique et la symptomatologie du SII, la question de l'origine d'un excès éventuel de butyrate colique dans le SII reste à déterminer. Elle pourrait s'expliquer par l'hypothèse étiologique de la dysbiose.

De nombreuses études rapportent une modification de la quantité et du type des bactéries commensales présentes dans le côlon des patients atteints de SII (Parkes et al., 2008). Ces modifications de la flore colique pourraient être la conséquence d'une infection ou d'une inflammation préalable. Globalement, le SII se caractérise par une augmentation significative de la flore anaérobie facultative au niveau des fèces (*Bacteroides* qui produisent du butyrate), accompagnée d'une diminution des *Bifidobactéries* et des *Lactobacilles*. En outre, un autre type de bactéries commensales qui produisent du sulfure d'hydrogène (H_2S), les bactéries sulfato-réductrices, est sur-représenté dans les douleurs viscérales (Taniguchi et al., 2009). Le H_2S est un inhibiteur de l'oxydation du butyrate (Moore et al., 1997; Babidge et al., 1998) et sa sur-production peut donc augmenter par elle seule la concentration intra-luminale de butyrate. Un état douloureux viscéral comme celui du SII est donc potentiellement associé à un excès de production de butyrate et de H_2S . Le H_2S a des effets nocifs bien connus sur la physiologie du côlon. Ce gaz peut agir sur les cellules interstitielles de Cajal et perturber l'activité motrice de l'intestin (Schemann and Grundy, 2009) et il peut agir sur les neurones sensoriels coliques et les rendre hyper-

excitables (Xu et al., 2009). En revanche, aucune publication n'a à ce jour décrit des effets délétères induits par le butyrate sur le côlon humain.

Chez le rat, dans notre modèle, les lavements au butyrate entraînent une diminution de la flore anaérobie facultative du côlon (Bourdu *et al.*, données non publiées). Ces résultats sont contradictoires avec les modifications observées chez les patients atteints du SII. Cependant, il semble que la composition taxonomique de la flore colique des patients atteints du SII est différente selon leur sous-type et que l'augmentation des bactéries anaérobies serait une caractéristique du SII-C (Malinen et al., 2005). Il est nécessaire que d'autres études se poursuivent pour corrélérer les modifications de flore aux symptômes spécifiques du SII et pour pouvoir identifier plus précisément les modifications d'espèces ou de groupes bactériens chez les patients. Il en est de même pour le modèle butyrate car il faut garder à l'esprit que la flore colique est un écosystème très complexe et que l'équilibre des populations joue un rôle majeur dans la physiologie du côlon. Ainsi, la diminution de la flore anaérobie facultative chez les rats butyrate est une donnée absolue mais doit s'envisager de façon relative aux autres populations bactériennes. Par exemple, il n'y a pas de changement dans la quantité de bactéries anaérobies strictes, dont les *Bactéroides*, qui sont augmentées dans le SII, font partie. En conséquence, il apparaît que dans le modèle butyrate, la proportion de ces bactéries est plus grande ce qui est cohérent avec la clinique du SII. De plus, la sur-représentation potentielle de la flore anaérobie stricte pourrait être accentuée par la modification de la proportion d'autres bactéries, par exemple les bactéries aérobies qui n'ont pas été dénombrées dans le modèle. Le butyrate pourrait favoriser la prolifération des bactéries anaérobies plutôt que celle des populations bactériennes aérobies protectrices. Les bénéfices apportés aux patients par les pro-biotiques à base de *Lactobacilles* (Camilleri, 2008) et l'effet anti-hyperalgique de la complémentation en *L. acidophilus* dans le modèle butyrate (Rousseaux et al., 2007) suggèrent que les lavements au butyrate pourraient effectivement entraîner la sous-représentation de ces bactéries.

Butyrate et physiologie colique

Un déséquilibre des populations bactériennes commensales peut expliquer l'excès de butyrate chez les malades. Dans le modèle butyrate, un tel excès (200mM vs 1 à 10mM) a une cause extérieure expérimentale mais provoque également une modification de la microflore colique. Cette dysbiose peut expliquer les altérations de la physiologie colique par les interactions entretenues entre la flore colique, le SNE et le système

immunitaire. Cependant, des mécanismes n'impliquant pas le système immunitaire pourraient être à l'œuvre dans le SII, notamment par l'action du butyrate.

Le rôle du butyrate dans l'homéostasie colique n'est pas encore parfaitement connu mais les mécanismes de son absorption colique ont été décrits (Velazquez et al., 1997). Le butyrate est transporté par diffusion directe de la forme acide, par passage sous forme anionique par échange avec le bicarbonate ou par passage après protonation. Le transport privilégié du butyrate est inconnu mais, dans la majorité des cas, l'absorption du butyrate par les colonocytes induit une libération d'ions H^+ au niveau de la lumière colique. Ainsi, il a été montré que le butyrate induit une acidification de la muqueuse *in vitro* (Vaneckova et al., 2001) et *in vivo* (Folino et al., 1995).

Dans le modèle butyrate, nous avons mis en évidence que le butyrate induit chez le rat une diminution significative et stable du pH luminal *in vivo* et muqueux *in vitro* au niveau du côlon descendant. L'acide butyrique est capable d'activer l'expression de la protéine Fos dans les plexi de Meissner (Tixier et al., 2006) ce qui renforce l'hypothèse qu'une acidification de la muqueuse après absorption de butyrate puisse être à l'origine de mécanismes nerveux modifiant la physiologie colique. De plus, l'acidification du milieu rend possible la sensibilisation des terminaisons nerveuses par l'activation de canaux sensibles à l'acidité (canaux ASIC, P2X, TRPV1).

Cependant, ces effets du butyrate sont à mettre en perspective avec ceux rapportés par de nombreuses études qui ont démontré que les acides gras volatils ont un rôle positif sur l'homéostasie intestinale. Le butyrate a des propriétés anti-tumorales et trophiques qui sont associées à des effets bénéfiques dans le cancer colo-rectal et dans la RCH (Velazquez et al., 1996; Scheppach et al., 1997; Compher et al., 1999; D'Argenio and Mazzacca, 1999; Luhrs et al., 2002). Le butyrate jouerait un rôle prépondérant dans la protection et la régénération des muqueuses en favorisant la prolifération des cellules des cryptes et en régulant le métabolisme des acides gras, le transport des électrons et le stress oxydant lors de l'inflammation (Hamer et al., 2008; Vanhoutvin et al., 2009b). Nous pouvons expliquer ces observations contradictoires par le fait que le butyrate pourrait avoir un effet bénéfique sur les cellules épithéliales mais délétère au niveau de la sous-muqueuse où se trouvent les structures nerveuses entériques. Ainsi, chez les individus sains dont l'intégrité de la muqueuse est préservée, les effets bénéfiques du butyrate, qui s'exercent sur l'épithélium, seraient prépondérants comme le montre une étude qui rapporte un effet hypo-sensibilisant du butyrate lors de la DCR chez des volontaires sains (Vanhoutvin et al., 2009a). En revanche, dans des conditions de vulnérabilité de la

muqueuse, comme dans le côlon immature de rats nouveaux-nés, la présence de butyrate peut s'accompagner de lésions et d'un affaiblissement de la défense immunitaire innée suite à un défaut de la production du peptide ant-microbien ITF (intestinal trefoil factor) (Lin et al., 2005b). Ces altérations pourraient être amplifiées par des effets stimulants de l'activité pro-inflammatoire cellulaire attribués au butyrate (Fusunyan et al., 1998; Cavaglieri et al., 2003; Vinolo et al., 2009a; Vinolo et al., 2009b).

Dans le modèle butyrate, la répétition des instillations permettrait son accès à la sous-muqueuse où il aurait un effet sensibilisant. Ainsi, les lavements coliques au butyrate (14 lavements à 40mM ou 6 lavements coliques à 200mM) augmentent l'HSC induite par le TNBS (Tarrerias et al., 2002). Cet effet n'est pas retrouvé lors de l'administration conjointe de butyrate (40mM), de propionate (30mM) et d'acétate (60mM) (Tarrerias et al., 2002). Le propionate pourrait contrecarrer l'effet délétère du butyrate en réduisant son absorption par les colonocytes et donc en diminuant sa concentration dans la muqueuse (Stein et al., 2000).

A.II. Origine et rôle du NGF colique dans l'HSC

Production de NGF au niveau de la muqueuse

L'absence d'infiltration mastocytaire et d'inflammation évidentes dans le côlon des rats traités avec le butyrate ne permet pas de suspecter l'intervention de médiateurs de l'inflammation neurogène dans l'HSC induite par le butyrate. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, la présence de butyrate en excès dans le côlon pourrait à la fois initier des modifications de la composition de la microflore ou entretenir une dysbiose pré-existante et provoquer une acidose modérée de la sous-muqueuse. Ces deux phénomènes peuvent être pourvoyeurs de NGF en stimulant les terminaisons libres nerveuses de la muqueuse. Il a en effet été montré que des composants bactériens comme les lipo-polysaccharides peuvent induire la synthèse de NGF par des cellules nerveuses (Galve-Roperh et al., 1997). Cependant, ces données sont peu nombreuses et nécessitent une confirmation par d'autres études. D'un autre côté, la glie entérique (von Boyen et al., 2006) et les cellules épithéliales de l'intestin (Varilek et al., 1995; Ma et al., 2003; Moriez et al., 2009) peuvent libérer du NGF, par exemple suite à la stimulation du SNE par une acidose même modérée.

NGF et fibres sensorielles entériques

La destruction des fibres C par un traitement néo-natal avec de la capsaïcine prévient l'HSC induite par le butyrate chez les rats adultes (Bourdu et al., 2005). Les fibres C peptidergiques du mur intestinal sont donc impliquées dans l'HSC associée au modèle butyrate. Comme ce sont ces mêmes fibres C qui sont sensibilisées par le NGF (Dmitrieva and McMahon, 1996; Lamb et al., 2004; Bielefeldt et al., 2006; Indo, 2009), il apparaît très probable qu'elles soient le siège des processus de sensibilisation viscérale impliquant le NGF. Les fibres sensorielles entériques peuvent synthétiser le NGF et/ou le transporter de façon rétrograde vers les GRD (Zweifel et al., 2005) et ainsi contribuer à la sensibilisation nerveuse au niveau central par sa libération rétrograde dans la MEp (Seybold, 2009).

Enfin, un autre rôle du NGF semble émerger de données récentes qui décrivent une interaction, dans le système nerveux et en périphérie, entre le NGF et le TNF α (Takei and Laskey, 2008a, 2008b). Le NGF peut stimuler la sécrétion de TNF α qui peut moduler l'expression du NGF en retour, influencer la survie et la différenciation neuronales et induire des processus de type inflammatoire (par exemple une sensibilisation nerveuse). De plus, le TNF α peut contribuer au maintien d'une concentration élevée de butyrate dans le côlon en inhibant son oxydation (Nancey et al., 2005). Ainsi, le NGF pourrait entretenir les altérations de la physiologie de la muqueuse colique dans les états douloureux viscéraux via les effets du TNF α .

En résumé, la composition bactérienne et la présence de butyrate sont deux éléments qui interagissent et peuvent conduire à une perméabilisation de la muqueuse. La stimulation des cellules épithéliales et du SNE (glie, fibres sensorielles dans la sous-muqueuse) par les ions H $^{+}$, les contacts bactériens ou d'autres facteurs est alors possible et peut conduire au développement d'une hyper-sensibilisation nerveuse par l'intermédiaire du NGF.

B. Mécanismes périphériques de l'HSC

B.I. Implication du NGF dans le modèle butyrate

Implication du NGF dans les douleurs viscérales inflammatoires

Le NGF est un neuromédiateur impliqué dans les états douloureux et en particulier dans les états douloureux viscéraux chroniques (Mendell et al., 1999; Bennett, 2001; Pezet and McMahon, 2006). En accord avec la distribution de son récepteur de haute affinité trkA, qui est exprimé dans l'ensemble du tractus gastro-intestinal (McMahon et al., 1994; Averill et al., 1995), de nombreux modèles animaux de douleur viscérale ont permis de démontrer la capacité du NGF d'induire une hyper-sensibilité de la vessie (Lamb et al., 2004; Bielefeldt et al., 2006; Guerios et al., 2006) et du côlon (Delafoy et al., 2003; Bielefeldt et al., 2006). La douleur viscérale induite dans ces modèles est de type inflammatoire et peut s'expliquer par la sensibilisation des afférences sensorielles par le NGF libéré dans les organes enflammés (Dmitrieva and McMahon, 1996; Shu and Mendell, 1999; Heppenstall and Lewin, 2000; Bielefeldt et al., 2006).

Cependant, le rôle du NGF dans la douleur viscérale non inflammatoire n'a jusqu'à présent pas été exploré. Nous nous sommes donc proposé d'étudier l'implication du NGF dans un modèle de SII caractérisé par l'induction d'une hyper-sensibilité viscérale sans inflammation.

Implication périphérique du NGF dans l'HSC induite par le butyrate

L'usage d'anticorps anti-NGF administrés de façon systémique permet d'étudier l'effet d'un blocage périphérique du NGF chez l'animal puisque les anticorps ne franchissent pas la barrière hémato-encéphalique. Cette propriété a été utilisée par Delafoy et al. (2006) et a permis de montrer que l'injection systémique d'anticorps anti-NGF augmente les seuils de douleur à la DCR chez des rats présentant une hyper-sensibilité du côlon descendant induite par l'instillation d'acide trinitrobenzene sulfonyl (TNBS) dans le côlon proximal (Delafoy et al., 2006).

Nos résultats montrent que l'HSC non inflammatoire induite par le butyrate est bloquée par l'administration répétée d'anticorps anti-NGF et suggèrent une implication périphérique du NGF dans son développement. Cette hypothèse est confirmée par l'augmentation d'expression du NGF (ARNm et protéine) dans les GRD lombo-sacrés des

rats traités avec du butyrate. Nous avons ensuite entrepris d'étudier par quels mécanismes le NGF contribue au développement de cette sensibilisation périphérique.

B.II. Mécanismes d'action du NGF

Côlon

Chez les rats sains, le NGF est produit de façon basale par les cellules intestinales (Varilek et al., 1995) mais son expression muqueuse augmente fortement dans des conditions inflammatoires comme une colite induite par instillation à distance de TNBS (Barada et al., 2007; Stanzel et al., 2008). Le mécanisme d'action proposé est la formation d'une hyperplasie mastocytaire capable de sensibiliser les terminaisons nerveuses entériques (Aloe and Levi-Montalcini, 1977). L'existence d'interactions entre les mastocytes et les neurones sensoriels a été démontrée dans la muqueuse des patients atteints de SII (Barbara et al., 2004b). Le nombre de mastocytes dans les biopsies coliques n'est pas corrélé aux symptômes intestinaux mais par contre, la proximité du contact est, elle, corrélée à la symptomatologie. Ainsi, seuls les mastocytes au très proche voisinage des nerfs ($<5\mu\text{m}$) sont associés à l'intensité et à la fréquence des douleurs abdominales et de l'inconfort des patients. Ce résultat s'explique par l'intervention d'un médiateur mastocytaire excitant les terminaisons libres coliques (Barbara et al., 2007) qui est très vraisemblablement le NGF puisque l'activation des mastocytes (par exemple par la CRH lors d'un stress) provoque sa libération (Barreau et al., 2007).

Cependant, dans notre modèle de douleur viscérale, si le NGF est bien exprimé au niveau colique, en revanche, son niveau d'expression, quantifié par IHC sur l'ensemble de la section transverse du côlon, n'est pas modifié. Ce résultat peut s'expliquer de deux manières. D'un point de vue méthodologique, la technique de quantification utilisée n'est ni assez précise ni spécifique et ne permet pas d'évaluer l'expression du NGF dans les structures d'intérêt telles que les plexi nerveux, qui sont des lieux privilégiés pour les interactions neuro-immunitaires. Le développement de la technique de micro-dissection laser du tissu colique suivie d'analyse en qRT-PCR et IHC pourrait permettre de quantifier plus finement le niveau d'expression du NGF dans ces structures. D'un point de vue physio-pathologique, l'absence de sur-expression du NGF dans le côlon des rats butyrate peut s'expliquer par le fait que le modèle butyrate est un modèle non inflammatoire. Les rats traités ne présentent pas de signes d'atteintes physiques ou biochimiques coliques ni

d'infiltration mastocytaire (Bourdu et al., 2005). Nous pouvons donc suspecter que le NGF ne contribue pas à la sensibilisation des afférences viscérales primaires en excitant directement leurs terminaisons libres. En accord avec l'augmentation d'expression du NGF dans les GRD, nous avons émis l'hypothèse que l'action du NGF serait indirecte et impliquerait la mise en œuvre de phénomènes neuroplastiques aboutissant à l'hyper-excitabilité des neurones sensoriels viscéraux.

GRD

Au niveau somatique, le NGF participe aux changements plastiques qui interviennent dans les nocicepteurs lors de la sensibilisation périphérique. Parmi la large gamme d'effets du NGF sur le nocicepteur, il a été décrit (1) une augmentation de l'expression de la SP et du CGRP (Pezet et al., 2001) ; (2) une augmentation de l'expression des récepteurs couplés à des canaux ioniques comme TRPV1 (Zhang et al., 2005), ASIC3 (Mamet et al., 2003) et P2X3 (Simonetti et al., 2006) et de récepteurs aux médiateurs inflammatoires (Lee et al., 2002b) ; (3) une augmentation des courants ioniques médiés par les canaux ASIC3 (Mamet et al., 2002) et par les canaux sodiques NaV (Leffler et al., 2002) ; et (4) un "bourgeonnement" des nocicepteurs exprimant le trkA qui conduit à une hyper-innervation de l'épiderme et des autres tissus cibles du NGF (Ramer et al., 1999).

Au niveau viscéral, le mécanisme d'action du NGF dans les phénomènes de sensibilisation n'a pas été très étudié à ce jour. Chez l'homme, l'équipe de P. Anand a montré que l'hyper-sensibilité rectale met en jeu des mécanismes qui dépendent du NGF et qui concourent à augmenter l'expression du CGRP dans les neurones des plexi sous-muqueux (Chan et al., 2003). Plusieurs observations indirectes semblent confirmer ce mécanisme. Tout d'abord, le CGRP est impliqué dans les douleurs viscérales (Friesen et al., 1997; Plourde et al., 1997; Delafoy et al., 2006). Ensuite, chez le rat, dans le modèle d'inflammation colique au TNBS et dans le modèle butyrate, la destruction des fibres exprimant le CGRP par un traitement néonatal à la capsaïcine et l'injection de h-CGRP8-37 (antagoniste du CGRP) permettent de prévenir l'HSC (Delafoy et al., 2003; Bourdu et al., 2005). Enfin, le h-CGRP8-37 ou des anticorps anti-CGRP préviennent l'HSC induite par l'administration systémique de NGF (Delafoy et al., 2003; Delafoy et al., 2006). L'ensemble de ces résultats suggère qu'il existe bien une interaction entre le NGF et le CGRP dans les douleurs viscérales.

Dans le modèle butyrate, l'augmentation d'expression du NGF dans les neurones

sensoriels est cohérente avec ces données. Le NGF permettrait le développement de l'HSC induite par le butyrate en sensibilisant les fibres C peptidergiques exprimant le CGRP comme le suggère la co-localisation du NGF et du CGRP dans les nocicepteurs par microscopie confocale. Dans les nocicepteurs, l'action du NGF sur la libération de CGRP pourrait être concertée avec une autre neurotrophine, le BDNF. En effet, le BDNF injecté par voie i.p. exacerbe l'HSC induite par le TNBS alors que l'administration d'anticorps anti-BDNF la prévient (Delafoy et al., 2006). L'injection systémique d'anticorps anti-BDNF a également un effet anti-hyperalgique sur l'HSC induite par le butyrate (Bourdu *et al.*, données non publiées). Ces résultats confirment le rôle du BDNF décrit dans les douleurs inflammatoires viscérales (Oddiah et al., 1998; Zhu et al., 2001) et laissent penser que le BDNF pourrait agir synergiquement avec le NGF pour augmenter la libération centrale de CGRP.

B.III. Implication des canaux ASIC dans le modèle butyrate

Implication des canaux ASIC et TRPV1 dans les douleurs viscérales inflammatoires

Lors de la sensibilisation périphérique, le NGF peut provoquer un changement du phénotype des nocicepteurs en potentialisant la libération de CGRP mais aussi en augmentant leur excitabilité. Ce dernier mécanisme met en jeu des canaux ioniques membranaires qui peuvent intervenir synergiquement avec le NGF pour permettre la sensibilisation des afférences coliques. Nous avons étudié l'implication de deux familles de canaux modulés par le NGF et dont le rôle dans la physio-pathologie des douleurs coliques d'origine inflammatoire est décrit par plusieurs articles: les canaux ASIC (Jones et al., 2005; Jones et al., 2007; Page et al., 2007) et les récepteurs TRPV1 (Jones et al., 2005; Jones et al., 2007; van den Wijngaard et al., 2009). Les canaux ASIC et TRPV1 peuvent être activés par les ions H⁺ relargués lors de l'acidose caractéristique des lésions tissulaires et des états douloureux (Holzer, 2009) et provoquer l'excitation des terminaisons nerveuses de la muqueuse colique (Mamet et al., 2002; Jones et al., 2005; Sugiura et al., 2007).

Implication des canaux ASIC mais pas de TRPV1 dans l'HSC induite par le butyrate

Nos résultats montrent que les canaux ASIC participent à l'HSC induite par le butyrate puisque l'administration systémique d'amiloride, mais pas de capsazepine,

prévient cette hyper-sensibilité.

Bien que les fibres C peptidergiques sensibles à la capsaïcine, qui expriment le TRPV1, jouent un rôle important dans la douleur viscérale provoquée par le butyrate (Bourdu et al., 2005), leur sensibilisation impliquerait des acteurs moléculaires autres que le TRPV1 dans notre modèle non inflammatoire de SII. C'est une donnée intéressante d'un point de vue physio-pathologique puisque le rôle de TRPV1 est très clairement associé aux états inflammatoires douloureux viscéraux chez l'animal (Jones et al., 2005; Xu et al., 2007) et chez l'homme (Matthews et al., 2004; Domotor et al., 2005; Akbar et al., 2008).

Deux éléments peuvent rendre compte de l'implication différentielle des ASIC et de TRPV1 : la gamme d'activation de ces canaux par l'acide et le type de fibres impliquées.

(1) Le récepteur TRPV1 et les canaux ASIC sont activés par des pH acides. Si dans les conditions physiologiques, TRPV1 n'est activé que par les pH faibles ($\text{pH} < 6$), les ASIC sont activés par une acidification modérée (Holzer, 2009). Les $\text{pH}_{0,5}$ de ASIC1a et TRPV1 étant différents, ASIC1a peut être activé à la fois par les bas pH et les pH plus modérés. Ainsi, l'injection hypodermique directe de solutions acides chez l'homme a montré que la contribution de TRPV1 à la nociception est prédominante sur celle des ASIC dans des conditions d'acidité extrême (Ugawa et al., 2002). De même, au niveau viscéral, *in vitro*, une acidose forte dans les cultures de neurones sensoriels coliques induit principalement les courants médiés par TRPV1 (Sugiura et al., 2007). A cet égard, l'augmentation de l'immuno-réactivité à TRPV1 dans les biopsies coliques rapportées chez l'homme (Akbar et al., 2008) doit être pondérée par le fait que les patients inclus dans cette étude présentent tous une inflammation de la muqueuse caractérisée par une forte infiltration de mastocytes et de lymphocytes ce qui suggère l'existence d'une acidose marquée. A l'inverse, dans le modèle butyrate, une diminution significative et stable du pH luminal *in vivo* et muqueux *in vitro* au niveau du côlon descendant a pu être mise en évidence. Les variations de pH induite par le butyrate dans le côlon sont de l'ordre de 0,2-0,5 unité pH (soit un pH entre 6,7 et 7 dans la muqueuse) ce qui est cohérent avec la gamme d'activation des ASIC. Les atteintes périphériques associées à l'HSC induite par le butyrate seraient donc trop modérées pour mettre en jeu le TRPV1 et provoqueraient l'activation préférentielle des canaux ASIC. Cependant, ces mesures de pH doivent être considérées avec précaution. Si les méthodes de mesure que nous avons employées ont toutes deux permis de constater une baisse de pH chez les rats butyrate, elles ne sont pas idéales car elles ne permettent pas qu'une évaluation indirecte du pH dans la muqueuse.

L'utilisation d'une aiguille gaugée montée sur micro-électrode de pH s'est révélée inadaptée et il n'existe pas, à notre connaissance, d'autre technique de détermination du pH de la muqueuse colique facilement réalisable *in vivo*.

(2) Différentes populations de neurones sensoriels exprimant le TRPV1 et les ASIC pourraient être impliquées dans l'HSC induite par le butyrate. Au niveau somatique, l'existence de différentes populations de neurones sensibles à l'acide est suggérée par la description de plusieurs catégories de nocicepteurs différant par la nature de type TRPV1 ou ASIC de leurs courants induits par les ions H⁺ (Garraway et al., 2003) et par la description de réponses électriques bi-modales à l'acidité dans les nerfs sensoriels de souris KO TRPV1 (Caterina et al., 2000; Davis et al., 2000). Dans la douleur viscérale, de telles différences existent mais sont subtiles puisque, par exemple, la sensibilisation chimique (pH6 + soupe inflammatoire) des mécano-récepteurs coliques est affectée différemment chez les souris KO TRPV1 et ASIC3 (Jones et al., 2005). L'implication de TRPV1 et ASIC3 dans la sensibilisation colique semble être dépendante du type de fibres afférentes : le rôle de ASIC3 est dominant dans les afférences musculaires alors que TRPV1 et ASIC3 sont tous les deux requis dans les afférences musculo-muqueuses pour la sensibilisation chimique (Jones et al., 2005) ou non-inflammatoire par le zymosan (Jones et al., 2007). Dans ces afférences musculo-muqueuses, TRPV1 contribuerait donc aussi bien à l'HSC consécutive à des atteintes inflammatoires que non-inflammatoires et cette participation dépend de la présence de ASIC3. De plus, comme la majorité des afférences coliques sont TRPV1-IR (Verne et al., 2001; Page et al., 2005; Christianson et al., 2008), ces données suggèrent que TRPV1 pourrait ne pas avoir un rôle spécifique dans la sensibilisation des afférences associée aux états douloureux viscéraux chroniques. Il pourrait amplifier l'intensité du message lié à l'étirement de la paroi colique, codé par les mécanorécepteurs musculo-muqueux, par le recrutement d'afférences coliques TRPV1-IR ayant une réponse à faible fréquence de PA (Malin et al., 2009). A l'inverse, les ASIC pourraient avoir un rôle plus spécifique dans la sensibilisation colique comme le montrent des altérations de la mécano-perception et de la mécano-sensibilité chez les souris KO pour les différentes sous-unités ASIC (Page et al., 2004; Page et al., 2005; Page et al., 2007). Ces altérations sont cependant différentes en fonction du type de fibre concerné. Ainsi, les souris KO ASIC1a ont une mécano-sensibilité colique augmentée dans les fibres mésentériques, séreuses et muqueuses mais inchangée dans les fibres musculo-muqueuses et musculaires (Page et al., 2004). Les KO ASIC2 ont une mécano-sensibilité augmentée dans les fibres séreuses (Page et al., 2005). Au regard de

l'ensemble de ces données, l'implication seule des ASIC dans notre modèle pourrait traduire soit des altérations spécifiques dans les couches musculaires suggérant des anomalies motrices soit des altérations de la sensation/perception n'impliquant pas les mécano-récepteurs coliques. Comme l'amiloride n'a pas d'effet sur les seuils de réponse à l'étirement mécanique dans la couche musculo-muqueuse (Jones et al., 2005) et que l'expression de ASIC3 ne varie pas dans le modèle butyrate, nous pouvons émettre l'hypothèse que les isoformes ASIC1 et en particulier ASIC1a sont impliquées dans l'HSC induite par le butyrate au niveau des fibres musculaires et musculo-muqueuses par des mécanismes qui mettent en jeu non pas des mécano-récepteurs mais plutôt d'autres types d'afférences telles que les chimio-récepteurs.

Sur-expression périphérique des canaux ASIC1 dans le modèle butyrate

Les canaux ASIC sont des canaux sodiques comprenant 6 isoformes (ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3, et ASIC4) qui sont pour la plupart exprimées au niveau des fibres afférentes primaires (Waldmann et al., 1997b; Waldmann et al., 1997a; Voilley et al., 2001). Les analyses d'expression moléculaire ont précisé que les sous unités ASIC1, et ASIC1a en particulier, sont les sous-unités associées à l'HSC chez les rats traités avec du butyrate. Dans les neurones sensoriels des GRD lombo-sacrés, le niveau d'expression des ARNm ASIC1a et ASIC1b est augmenté. L'expression des protéines ASIC1a et ASIC1b est également augmentée bien que seule la sur-expression de la protéine ASIC1a soit significativement différente par rapport aux rats sains. La sur-expression des sous-unités ASIC1 est observée uniquement dans les GRD lombo-sacrés innervant le côlon. Aucune variation d'expression de ASIC1a ou ASIC1b n'est observée dans les neurones sensoriels thoraciques qui n'innervent pas le côlon. Cette expérimentation contrôle suggère que la sur-expression de ASIC1 est la conséquence de l'action du butyrate sur le côlon et laisse suspecter que les neurones sensoriels sur-exprimant les sous-unités ASIC1 sont les neurones coliques. En analysant la proportion de neurones ASIC1-IR en fonction de la taille de leur soma, nous avons déterminé que ce sont les neurones de petite taille qui sur-expriment ASIC1. Or, les neurones nociceptifs ont un soma de petite taille (15–30µm), contrairement aux autres neurones sensoriels qui sont plus gros (fibres A: 30–50µm ; fibres A de grande taille: >50µm) (Lawson and Waddell, 1991). Il apparaît donc que la sur-expression de la protéine ASIC1 dans les GRD est due à un changement phénotypique spécifique des fibres nociceptives qui conduit à une augmentation de la proportion de neurones ASIC1-IR de petit diamètre.

L'implication de ASIC3 reste à déterminer

Plusieurs articles ont montré que, bien que les différents types de canaux ASIC soient impliqués dans la mécano-sensation et la mécano-perception coliques et gastro-oesophagiennes (Page et al., 2004; Page et al., 2005; Hughes et al., 2007), les sous-unités ASIC3 sont les principales sous-unités ASIC exprimées dans les neurones sensoriels coliques (Hughes et al., 2007). Alors que l'absence de variation de l'ARNm du gène ASIC2a dans les GRD est cohérente en regard de sa distribution dans le système nerveux, l'absence de variation de ASIC3 est surprenante car l'implication du canal ASIC3 dans les mécanismes de la douleur viscérale, en particulier dans les états inflammatoires, est un résultat très robuste de la bibliographie (Jones et al., 2005; Page et al., 2007; Wulsch et al., 2007). ASIC3 module la sensation de douleur après des stimulations nociceptives chimiques, thermiques ou mécaniques (Chen et al., 2002; Deval et al., 2008), contribue à l'inflammation neurogène (Sluka et al., 2003; Jones et al., 2005; Mogil et al., 2005; Ikeuchi et al., 2008) et à l'hyperexcitabilité membranaire des nocicepteurs en réponse au NGF lors de l'inflammation (Mamet et al., 2002; Mamet et al., 2003). A l'inverse, l'HSC induite par le butyrate est caractérisée par l'implication de ASIC1a mais pas par celle de ASIC3. Ce résultat amène à la conclusion que le rôle de ASIC3 dans la physiopathologie viscérale pourrait être la médiation d'événements purement inflammatoires. Chez l'Homme, il a été montré que l'expression des ARNm du gène ASIC3 est augmentée au niveau de la muqueuse colique de patients atteints de MICI contrairement à celle des ASIC1 et 2 (Yiangou et al., 2001c).

L'hypothèse d'une implication de ASIC3 dans un modèle de douleur viscérale non inflammatoire comme le modèle butyrate ne serait donc pas pertinente. Cependant, alors que Voilley *et al.* (2001) ont montré *in vitro* que l'ibuprofène inhibe de manière dose-dépendante le courant induit par les ASIC1a et que le diclofenac diminue le courant émis par les canaux ASIC3 (Voilley et al., 2001), seul le diclofenac (administré par voie *p.o.*) a un effet anti-hyperalgique sur l'HSC induite par le butyrate lors du test de DCR (Bourdu *et al.*, données non publiées). Ce résultat peut sans doute s'expliquer par le fait que les canaux ne sont fonctionnels que lorsqu'ils sont homo- ou hétéro-trimérisés. L'absence d'effet de l'ibuprofène laisse penser que le canal ASIC1a homo-trimérique n'est pas impliqué dans l'HSC induite par le butyrate. A l'inverse, l'effet du diclofenac suggère que la sous-unité ASIC3 pourrait être impliquée en association avec d'autres sous-unités ASIC. ASIC3 peut en effet former des hétéro-trimères avec ASIC1a, ASIC1b et ASIC2b (Deval et al., 2004; Hesselager et al., 2004).

En accord avec les augmentations d'expression des ARNm des gènes ASIC1a et ASIC1b dans les GRD et ASIC1a, ASIC2a et ASIC2b dans la MEp des rats butyrate, nous pouvons donc suspecter qu'il existe un changement dans la proportion d'hétéro-trimères associés à ASIC3 à ces deux niveaux. Cette interprétation rendrait compte de son implication en l'absence de changement dans son expression via des modifications de ses propriétés électrophysiologiques. Bien que leur expression soit inchangée, nous pouvons penser que les canaux ASIC3, associés avec les canaux ASIC1 sur-exprimés, forment des hétéro-trimères fonctionnels responsables de l'HSC induite par le butyrate. L'étude en patch clamp des différents courants ASIC dans les neurones sensoriels des rats traités avec du butyrate pourrait permettre de répondre à cette question.

B.IV. Modulation périphérique des ASIC par le NGF

Dans le modèle butyrate, la sur-expression du canal ASIC1a dans les nocicepteurs dépend de la présence du NGF puisque les injections d'anticorps anti-NGF la préviennent. La modulation du canal ASIC1a par le NGF pourrait donc être la conséquence de la modulation de la transcription de ASIC1a par le NGF via l'activation de la voie de signalisation trkA-PLC-PI3K-PKC-CREB comme cela a été démontré *in vitro* dans le cas du récepteur TRPV1 (Ji et al., 2002; Bonnington and McNaughton, 2003; Xue et al., 2007). Cette néo-synthèse du TRPV1 permet ensuite sa sur-expression membranaire (Zhang et al., 2005). Le NGF pourrait ainsi promouvoir un switch phénotypique dans les nocicepteurs qui contribuerait à les sensibiliser en augmentant l'expression des canaux ASIC1a à leur membrane. Un mécanisme similaire a été décrit pour ASIC3 par Mamet *et al.* (2003) qui ont observé que dans des conditions inflammatoires, le NGF peut activer la voie de signalisation NGF-p75-JNK-p38-MAPK et ainsi augmenter la transcription du gène ASIC3 (Mamet et al., 2003). La stricte co-localisation par microscopie confocale du NGF, de trkA et de ASIC1a dans les somas des fibres C peptidergiques des rats butyrate suggère qu'une telle cascade d'événements est possible.

Nos résultats montrent que ASIC1 et le NGF sont des éléments cruciaux dans la sensibilisation périphérique en contribuant au switch phénotypique des neurones des GRD. L'absence de changement de leur expression colique indique qu'ils sont probablement transportés vers l'élément pré-synaptique (1ère synapse nociceptive dans la MEp) où ils transmettent le message douloureux viscéral. Nous avons donc poursuivi nos

recherches afin de déterminer si la sur-expression de ASIC1 et du NGF dans les neurones sensoriels a un retentissement au niveau spinal.

C. Mécanismes centraux de l'HSC

C.I. Augmentation de l'activité tonique et de l'activité phasique de la MEp thoracique dans le modèle butyrate

La sur-expression du NGF et des canaux ASIC1 pourrait sous-tendre des mécanismes à l'origine d'une sensibilisation centrale dans le modèle butyrate.

Lors de l'évaluation de l'expression spinale de la protéine Fos, nos résultats rapportent une augmentation spécifique de la densité de neurones actifs dans notre modèle de SII après DCR douloureuse répétée. Les stimulations douloureuses répétées du côlon ont induit une augmentation de la densité de noyaux Fos-IR dans la MEp dorsale des segments T10-T11-T12 des rats traités avec du butyrate alors qu'aucun changement d'expression n'a été observé à ces niveaux chez les animaux traités avec du sérum physiologique. Cette augmentation d'activité neuronale phasique en réponse à la DCR (hyper-réactivité spinale) spécifique des segments thoraciques suggère que la perception colique exacerbée de la douleur chez les rats butyrate nécessite le recrutement de la MEp thoracique.

Lorsque les rats ne sont pas soumis à la DCR douloureuse répétée (rats sham), une densité plus élevée de noyaux Fos-IR est retrouvée dans la MEp thoracique des rats butyrate en comparaison avec les rats sains. Cette densité basale élevée (hyper-activité spinale) peut traduire une augmentation de l'activité neuronale tonique consécutive à une sensibilisation de la MEp.

C.II. Mécanismes présumés de l'hyper-activité et de l'hyper-réactivité de la MEp thoracique dans le modèle butyrate

Recrutement de la MEp thoracique dans l'HSC induite par le butyrate

Les études ultérieures chez le rat avaient déjà montré que l'activité de la MEp thoraco-lombaire contribue au traitement viscéro-somatique des informations nociceptives

en provenance d'un côlon enflammé mais pas d'un côlon normal (Traub, 2000; Traub and Murphy, 2002). Cependant, dans notre expérience, nous montrons pour la première fois qu'un modèle d'HSC non-inflammatoire partage des caractéristiques avec les modèles d'inflammation viscérale. L'hyper-réactivité de la MEp thoracique en réponse à la DCR douloureuse peut s'expliquer par l'implication des neurones déjà activés à l'état basal et aussi par le recrutement d'afférences viscéro-somatiques silencieuses à bas seuil d'activation (Mayer and Gebhart, 1994).

Nocicepteurs spinaux silencieux

La sensibilisation des neurones spinaux peut être la conséquence de stimulations répétées en provenance de la périphérie. Les nocicepteurs cutanés myélinisés mécaniques et polymodaux sont capables de bourgeonner dans les laminae I et II de la corne dorsale de la MEp après une lésion nerveuse (Woodbury et al., 2008; Hou et al., 2009). Le recrutement des nocicepteurs myélinisés a été décrit dans les états inflammatoires par l'équipe de Woolf et dépend de la néo-synthèse de substance P (Neumann et al., 1996). Le mécanisme invoqué est l'expansion d'axones de neurones sensoriels exprimant le CGRP et la SP dans la corne dorsale de la MEp mais aussi dans le funiculus latéral et la substance blanche sous l'effet du NGF (Romero et al., 2000). Dans le modèle d'HSC induite par le butyrate, un bourgeonnement des fibres sensorielles dans les laminae I-II pourrait être responsable de l'augmentation des entrées nociceptives dans la MEp thoracique et expliquerait son hyper-activité à l'état basal. Cette hypothèse est pertinente au regard de l'implication des fibres C peptidergiques dans le modèle butyrate (Bourdu et al., 2005). De plus, la MEp thoracique reçoit non seulement des afférences pelviennes mais aussi des afférences cutanées issues des dermatomes associés (Zhang et al., 2002; Hains et al., 2003). Le bourgeonnement d'afférences cutanées dans les laminae spinales recevant des fibres viscérales nociceptives du côlon pourrait constituer une base anatomique au développement de l'allodynie lombaire décrite dans le modèle butyrate (Bourdu et al., 2005).

Dérégulation des influences modulatrices spinales

Outre l'augmentation du nombre de neurones répondant aux entrées viscéro-somatiques convergentes, un défaut des influences inhibitrices peut aussi expliquer le développement d'une hyper-réactivité de la MEp thoracique chez les rats butyrate.

Ness & Gebhart (Ness and Gebhart, 1988a, , 1989) ont décrit trois populations

distinctes de neurones répondant à la DCR dans la MEp thoraco-lombaire et qui sont classées en neurones "abrupt", "sustained" et "inhibited". Les neurones "abrupt" sont activés par plusieurs segments spinaux et leurs PA sont provoqués uniquement par le stimulus mécanique de distension. Les neurones "sustained" sont activés dans leur propre segment spinal et commencent à décharger seulement à la fin du stimulus de distension. Les neurones "inhibited" sont spontanément actifs mais sont inhibés par la DCR. Pendant l'inflammation colique, la douleur viscérale est associée à une augmentation des décharges neuronales des neurones "sustained" (Ness and Gebhart, 2000), notamment au niveau thoraco-lombaire (Wang et al., 2005).

A la lumière de ces résultats, nous émettons l'hypothèse qu'une augmentation de l'activité des neurones "sustained" dans les segments T10-T11-T12 est responsable de l'hyper-activité de la MEp thoracique chez les rats butyrate. A l'inverse, un affaiblissement de l'activité des neurones "inhibited" pourrait également rendre compte de la forte activité basale et de l'hyper-activation spinale thoracique.

Un défaut de la modulation spinale par les voies descendantes pourrait induire une telle désinhibition. L'altération des influences descendantes inhibitrices et facilitatrices sur les neurones des laminae I et II des rats butyrate pourrait expliquer pourquoi des neurones spinaux thoraciques, initialement silencieux, sont devenus réactifs à la DCR. Ainsi, la facilitation descendante potentialise la transmission viscéro-nociceptive dans la MEp thoraco-lombaire et contribue aux réponses exagérées aux stimulations périphériques dans les états douloureux viscéraux (Traub and Murphy, 2002). D'autre part, l'inhibition descendante peut être modulée par l'activité des nerfs afférents via une boucle spino-supraspinale. Ainsi, une neurectomie aigüe du nerf pelvien facilite la réponse excitatrice des neurones thoraco-lombaire à la DCR alors qu'en cas de lésions chroniques, une activité ectopique se développe et réactive le circuit inhibiteur (Wang et al., 2007). Cette régulation pelvienne négative de l'activité thoraco-lombaire est dépendante d'une boucle spino-supraspinale puisque l'utilisation d'un collier cervical froid prévient l'inhibition par les voies supra-spinales. Ces données démontrent que le nerf pelvien peut réduire l'activité thoraco-lombaire en réponse à la DCR en inhibant la facilitation tonique descendante au niveau d'un site supra-spinal (Wang et al., 2007).

Comme nous avons trouvé que la densité de noyaux Fos-IR est plus faible chez les rats traités avec du butyrate que chez les contrôles dans la MEp lombo-sacrée, qui reçoit les afférences pelviennes (Grundy and Scratcherd, 1989), nous pouvons émettre l'hypothèse que l'activité des nerfs pelviens est diminuée chez les rats butyrate. Au regard

de l'étude de Wang *et al.* (2007), citée plus haut, une telle diminution pourrait conduire à une réduction de la régulation inhibitrice pelvienne de la MEp thoraco-lombaire via la boucle spino-supraspinale. Cette interprétation est cohérente avec nos résultats dichotomiques chez les rats butyrate qui ont une activité neuronale augmentée dans la MEp thoraco-lombaire mais diminuée dans la MEp lombo-sacrée par rapport aux rats traités avec du sérum physiologique. Cependant, des enregistrements électrophysiologiques *in vivo* de la MEp et des nerfs pelviens seraient nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

C.III. Implication centrale des canaux ASIC

Implication spinale des canaux ASIC1 dans l'HSC induite par le butyrate

Nos résultats rapportent que le canal ASIC1a est exprimé dans les neurones spinaux activés par les stimulations coliques. De plus, ASIC1a est sur-exprimé dans la MEp des rats butyrate. L'hypothèse qu'un nombre plus grand de neurones contribuent au message nociceptif dans la MEp peut être mise en rapport avec nos résultats au niveau périphérique qui montrent une augmentation du nombre de neurones sensoriels nociceptifs exprimant le canal ASIC1 dans l'HSC induite par le butyrate. Ainsi, au niveau de la 1ère synapse, dans la MEp, le canal ASIC1 pourrait participer à la transmission du message sensoriel comme cela l'a été montré dans les conditions physiologiques et inflammatoires (Wu *et al.*, 2004; Baron *et al.*, 2008). Cette hypothèse est étayée par plusieurs de nos résultats expérimentaux : (1) l'administration intra-thécale de PcTx1 réverse l'HSC induite par le butyrate lors du test de DCR, (2) l'expression de ASIC1a est augmentée dans la MEp des rats traités avec du butyrate et (3) les neurones Fos-IR activés par la DCR répétée douloureuse expriment ASIC1a. Ainsi, l'hyperactivité spinale pourrait s'expliquer par une augmentation de la transmission du message nociceptif viscéral via ASIC1a. Dans l'HSC, ASIC1a pourrait ainsi ne pas avoir un rôle de senseur de l'acide sur le site de la lésion (périphérie) mais agir plutôt à la synapse(MEp) pour la modulation et la transmission du message douloureux. A ce niveau, les canaux ASIC1a pourraient interagir avec d'autres molécules impliquées dans la transmission de l'information nociceptive.

L'effet anti-sensibilisateur de l'administration intra-thécale de la PcTx1, une toxine bloquant ASIC1a, conforte cette hypothèse. Cependant, l'effet central de la PcTx1 est

également anti-nociceptif dans les douleurs d'origines thermique, mécanique, chimique, inflammatoire et neuropathique chez le rat (Mazzuca et al., 2007) ce qui laisse penser que le rôle de ASIC1a pourrait ne pas être spécifique de l'HSC dans le modèle butyrate.

Les propriétés analgésiques de la PcTx1 sont supprimées par l'administration préalable d'antagonistes des récepteurs μ - et δ -opioïdiques (naloxone, naloxonazine et naltrindole) et ne sont pas observées chez les souris déficientes pour le gène de la pré-pro-enképhaline (souris *penk1-/-*) (Mazzuca et al., 2007). En revanche, un antagoniste des récepteurs k-opioïdiques (nor-binaltorphimine) n'a aucun effet sur l'analgésie induite par la PcTx1 qui est également conservée chez les souris déficientes pour les gènes codant la pro-opiomélanocortine (souris *pomc-/-*), la pro-dynorphine (souris *pdyn-/-*) ou la tachykinine (souris *tac1-/-*) (Mazzuca et al., 2007). Ces résultats montrent que le blocage des canaux ASIC1a par la PcTx1 s'accompagne de l'activation de la voie enképhalinergique endogène. Cet effet "opiacé" pourrait expliquer en partie ou en totalité l'effet de la toxine PcTx1 dans l'HSC induite par le butyrate qui est prévenue par des agonistes récepteurs μ - et k-opioïdiques (morphine et U50488H respectivement, Bourdu *et al.*, 2005).

Mécanistiquement, ces données suggèrent que le canal ASIC1a est un acteur important dans la modulation du système opioïdique endogène. L'inhibition du canal ASIC1a par la PcTx1 se traduit par des propriétés opioïdiques tandis que l'activation de ASIC1a par les peptides de la famille FMRF-amide (Wemmie et al., 2002; Lingueglia et al., 2006; Wemmie et al., 2006) qui sont exprimés dans le cerveau et la MEp s'accompagne de propriétés anti-opioïdiques (Roumy and Zajac, 1998). Les canaux ASIC1a pourraient donc être à un carrefour entre la voie des enképhalines et celle des peptides de la famille FMRF-amide. Une hypothèse mécanistique pourrait être que les peptides de type FMRF contrôlent négativement la voie opioïdique via le canal ASIC1a. La PcTx1, en bloquant ASIC1a, lèverait l'inhibition tonique exercée par la voie FMRF sur la voie des enképhalines.

Il serait intéressant de tester l'effet de la naloxone sur l'analgésie induite par la PcTx1 chez des rats butyrate lors du test de DCR afin de déterminer si de tels mécanismes opiacés sont en jeu dans l'HSC induite par le butyrate. Si l'effet de la PcTx1 sur l'HSC se révélait naloxone-sensible, cela indiquerait un effet de type opiacé qui pourrait se produire indépendamment de toute régulation périphérique et/ou spinale de ASIC1a dans le modèle butyrate par l'activation de la voie enképhalinergique. La participation éventuelle de ASIC1a (au niveau de la synapse centrale par exemple) dans

l'HSC étant alors masquée par le puissant effet opiacé. Toutefois, l'absence d'effet viscéral de la PcTx1 sur les animaux sains suggère que le rôle de ASIC1a dans l'HSC induite par le butyrate pourrait impliquer un autre mécanisme même s'il semble que la PcTx1 puisse aussi avoir un effet anti-hyperalgique qui est naloxone-dépendant (Mazzuca et al., 2007). Pour conclure, que l'effet analgésique de la PcTx1 soit lié à une inhibition directe de la fonction de ASIC1a dans la neurotransmission ou qu'il soit lié à une activation de la voie enképhalinergique via l'inhibition d'ASIC1a, ces résultats indiquent que le canal ASIC1a est une cible moléculaire importante pour le traitement de l'HSC et la PcTx1 pourrait être utilisée comme une nouvelle drogue analgésique agissant en amont des récepteurs opioïdiques. Des études ultérieures seront donc du plus grand intérêt pour la découverte des détails mécanistiques.

Implication des canaux ASIC2 et CaV3 dans le modèle butyrate

Outre les ARNm du gène ASIC1a, le niveau d'expression des ARNm des gènes ASIC2a et ASIC2b est augmenté dans la MEp des rats traités avec du butyrate. Les sous-unités ASIC2a et ASIC2b peuvent s'assembler avec ASIC1a pour former des hétérotrimères fonctionnels dans la MEp (Baron et al., 2008). ASIC2a et ASIC2b pourraient donc participer à la nociception viscérale en amplifiant les courants spinaux et en régulant les propriétés électrophysiologiques de ASIC1a.

Le manque d'antagonistes des canaux ASIC2a et ASIC2b nous enjoint à mieux définir les changements quantitatifs de ces sous-unités ASIC au niveau spinal. De plus, afin de mieux caractériser le rôle des ASIC dans l'excitabilité des neurones spinaux, il serait intéressant que des mesures des différents courants électrophysiologiques soient entreprises dans la MEp des rats butyrate. Cette technique étant très pointue et difficile à mettre en œuvre, une expérience alternative et/ou complémentaire serait d'évaluer l'activité des synapses ASIC-IR par imagerie confocale. En effet, le rôle de détection-activation des ASIC en présence de protons a conduit à mettre en évidence que les ASIC participent à l'activité synaptique. En particulier, ASIC1a peut être activé par les ions H⁺ libérés lors de l'exocytose des vésicules synaptiques et il a ainsi été montré, dans le cerveau, qu'il contribue à la plasticité et à l'activité neuronales (Wemmie et al., 2002; Wemmie et al., 2003). La co-localisation de ASIC1a avec la synaptophysine (marqueur vésiculaire) et VGLUT1 (marqueur des synapses excitatrices glutamatergiques) pourrait fournir une indication sur son rôle dans la sensibilisation spinale. Une étude menée sur des cultures organotypiques d'hippocampe suggère que ASIC1a pourrait augmenter la

proportion de boutons dendritiques au niveau d'une synapse donnée (Zha et al., 2006).

Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe d'Emmanuel Bourinet (Département de physiologie, Institut de Génomique Fonctionnelle, UMR CNRS 5203 / INSERM U661, Montpellier, France), l'implication des canaux CaV3 dans le modèle butyrate a été démontrée (Marger *et al.*, soumis). Notamment, l'administration intra-thécale d'oligonucléotides anti-sens bloquant l'expression des différentes sous-unités CaV mais aussi leur inhibition pharmacologique bloque le développement de l'HSC induite par le butyrate. De plus, le butyrate augmente la densité des courants CaV dans les neurones sensoriels coliques sans modifier les seuils de dépolarisation.

En résumé, la sur-expression des canaux ASIC et l'augmentation des courants CaV dans les neurones sensoriels, associées à l'efficacité pharmacologique de substances injectées dans la MEp pouvant diffuser jusqu'aux somas dans les GRD, suggèrent que l'activité pré-synaptique des neurones sensoriels est augmentée dans le modèle butyrate. Une telle hyper-activité engendrerait une hyper-stimulation des neurones nociceptifs de la corne dorsale de la MEp. Elle rendrait aussi compte de l'hyper-activité et de l'hyper-réactivité spinales aux stimulations coliques douloureuses caractérisant la sensibilisation centrale dans le modèle butyrate.

C.IV. Rôle du NGF dans la sensibilisation centrale

Au niveau central, le NGF contribue à la sensibilisation spinale à long terme. Son action s'exerce dans la MEp en participant à la potentialisation synaptique, notamment en favorisant la libération de neuro-médiateurs et la plasticité synaptique.

Induction de la libération spinale de neurokinines par le NGF

Dans les douleurs somatiques, Lewin *et al.* ont ainsi été les premiers à montrer que l'hyperalgie associée à l'application systémique de NGF possède une phase prolongée qui est maintenue par des mécanismes dépendant du NMDA (Lewin et al., 1994). Le mécanisme impliqué est l'augmentation de la synthèse et de la libération de neurotransmetteurs (SP, CGRP) dans la 1ère synapse centrale (Donnerer et al., 1992). Cependant, les antagonistes du récepteur NK1 à la SP ne réduisent pas l'hyperalgie mécanique induite par l'injection intra-plantaire de NGF ce qui indique que le NK1 ne

serait pas impliqué (Rueff et al., 1996). Les études récentes confortent le rôle prépondérant du CGRP dans l'action centrale du NGF. Par exemple, l'hyper-sensibilité cutanée post-inflammatoire et les douleurs associées à la neuropathie post-lésionnelle du nerf sciatique sont la conséquence d'une augmentation de la libération de CGRP par les neurones sensoriels (Xu and Hall, 2007; Zheng et al., 2008) et dans la MEp (Bowles et al., 2004) sous l'effet du NGF.

En ce qui concerne les douleurs viscérales, l'absence d'effet d'antagonistes des récepteurs NK1 dans le modèle butyrate (Bourdu *et al.*, données non publiées) et dans plusieurs autres modèles de douleur viscérale (Okano et al., 2002; Bradesi et al., 2003; Gaudreau and Plourde, 2003; Greenwood-Van Meerveld et al., 2003) semble confirmer les observations faites pour les douleurs somatiques. Dans la physiopathologie viscérale, le rôle des récepteurs NK1 serait limité aux processus inflammatoires au niveau de la muqueuse colique (Amann et al., 2000; Shafon et al., 2004). En revanche, le récepteur à la bradykinine B1, dont le blocage pharmacologique prévient l'hyperalgie induite par le NGF (Rueff et al., 1996), pourrait jouer un rôle dans la sensibilisation de la MEp associée à cette hyperalgie comme l'a montré la réduction du phénomène de wind-up par la délétion du gène codant le récepteur B1 (Pesquero et al., 2000). L'implication du CGRP doit également être étudiée car l'effet sensibilisateur du NGF dans le modèle butyrate pourrait s'exercer par l'augmentation de la libération spinale de CGRP comme l'indique l'augmentation de son expression dans la corne dorsale des rats butyrate (données non publiées du laboratoire).

Action synergique du NGF et du BDNF dans la plasticité synaptique

Le mécanisme central le plus important du NGF est de provoquer l'augmentation de la synthèse et l'induction de la libération de BDNF dans la MEp (Michael et al., 1997) où il agit sur les récepteurs trkB post-synaptiques (Kafitz et al., 1999). Ce mécanisme est bien décrit dans les douleurs somatiques mais reste inexploré dans la sphère viscérale.

Le BDNF est synthétisé dans les neurones sensoriels exprimant trkA qui correspondent aux fibres A β mais aussi aux fibres de type C (Merighi et al., 2004). Il est transporté de façon antérograde dans les laminae I-II de la MEp où il est co-localisé avec la SP dans les vésicules d'exocytose (Luo et al., 2001; Walker et al., 2001). Sa libération peut être provoquée expérimentalement par la stimulation électrophysiologique ou pharmacologique des fibres C (Lever et al., 2001). Un groupe d'auteurs a suggéré que le BDNF intervient lorsque les fibres tactiles à bas seuil du tissu lésé sont stimulées

(Mannion et al., 1999). La libération de NGF après l'inflammation induirait l'expression de BDNF dans les fibres A β ce qui provoquerait la libération de BDNF dans la MEp et entraînerait une hyper-sensibilité à la douleur. Au niveau spinal, le BDNF active des voies de signalisation suite à l'activation du trkB qui président à la plasticité synaptique spinale en modulant le récepteur NMDA (Kerr et al., 1999; Garraway et al., 2003). Ce scénario a été validé par des expériences réalisées sur des souris KO pour le gène du BDNF dont la réponse de wind-up est réduite (Heppenstall and Lewin, 2001). Le NGF pourrait donc contribuer, par l'intermédiaire du BDNF, aux changements neuro-plastiques des synapses centrales et permettre le développement d'une hyper-excitabilité des neurones spinaux et supra-spinaux.

Dans le modèle butyrate, l'implication du NGF au niveau central reste à déterminer. Nos résultats suggèrent que le NGF influence l'expression des canaux ASIC dans la MEp mais son rôle dans le traitement du message douloureux, qui est probablement indirect aux vues de la bibliographie, est à éclaircir. Il serait nécessaire d'identifier les partenaires du NGF dans le processus de sensibilisation centrale. L'investigation des changements dans l'expression de la bradykinine mais surtout du BDNF associés au traitement par le butyrate est donc une piste de recherche à explorer, soit par immunohistochimie, soit par électrophysiologie. Le BDNF est effectivement une cible très intéressante puisque des données récentes indiquent qu'il régule l'expression des canaux ASIC (Coryell et al., 2009; Montano et al., 2009). Il pourrait également influencer l'expression du canal CaV3.2 dont nous avons montré l'implication dans l'HSC induite par le butyrate. En effet, dans les GRD, le trkB et les canaux CaV3.2 sont spécifiquement exprimés dans les mécanorécepteurs de type D-hair (Shin et al., 2003; Dubreuil et al., 2004) qui semblent être des récepteurs non polymodaux ayant un rôle dans la nociception (Coste et al., 2007).

D. Perspectives : vers une meilleure compréhension de la physio-pathologie du SII?

L'ensemble des résultats obtenus permet d'entrevoir, à la lumière des données récentes de la bibliographie, les mécanismes de l'HSC induite par le butyrate. Nous avons donc élaboré un schéma étiologique qui rassemble et intègre volontairement à la fois les acteurs moléculaires identifiés dans le modèle butyrate et les facteurs impliqués dans l'étiologie du SII de manière à proposer une vue globale de la physio-pathologie de l'hyper-sensibilité viscérale non inflammatoire (Figure 1). Plusieurs points (numérotés de 1 à 7 sur la figure) sont cependant hypothétiques ou nécessitent une plus ample validation. Les perspectives de recherche pour confirmer et approfondir ces points sont nombreuses.

Point 1. Origine et implication du butyrate dans le SII.

Point 2. Effet du butyrate sur les cellules intestinales de la muqueuse colique.

Point 3. Effet du butyrate sur le SNE.

Point 4. Implication des canaux ASIC et du NGF au niveau colique.

Point 5. Rôle des ASIC et du NGF sur les propriétés des nocicepteurs.

Point 6. Hyper-excitabilité de la MEp dans le modèle butyrate.

Point 7. Implication des canaux ASIC et du NGF dans l'hyper-excitabilité spinale induite par le butyrate.

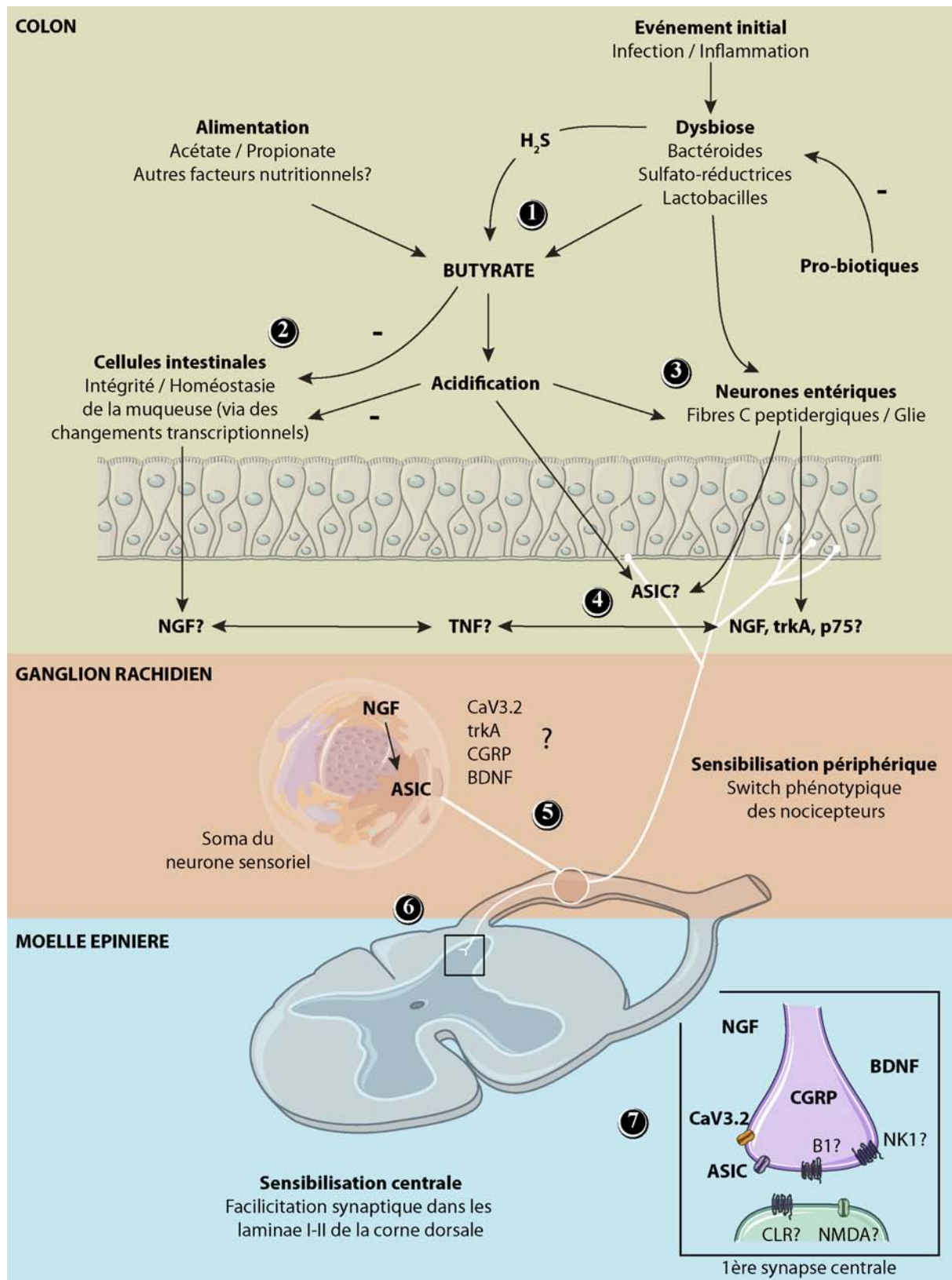


Figure 1. Mécanismes physio-pathologiques putatifs de l'HSC dans le SII. Le butyrate a été choisi comme "point de départ" de ces mécanismes puisque c'est sur la base des résultats obtenus dans le modèle butyrate qu'a été proposée cette hypothèse étiologique. Les numéros 1 à 7 indiquent les points mécanistiques nécessitant une validation expérimentale et/ou clinique. ASIC, acid-sensing ion channel; B1, bradykinin receptor 1; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; CGRP, calcitonin gene related peptide; CLR, calcitonin like receptor; H₂S, sulfure d'hydrogène; NGF, nerve growth factor; NK1, neurokinin receptor 1; NMDA, N-methyl D-aspartate receptor; TNF, tumor necrosis factor.

Point 1. Origine et implication du butyrate dans le SII.

Chez les patients atteints de SII, l'excès de butyrate colique n'est pas un résultat répliqué. *Des études évaluant la concentration de butyrate mais aussi la proportion de bactéries butyrogènes chez les patients sont nécessaires pour confirmer l'hypothèse d'une implication du butyrate dans l'étiologie du SII.* De plus, ces études devront différencier les sous-types cliniques de SII de façon à définir si le butyrate est responsable de certains symptômes en particulier

Enfin, le rôle de l'alimentation dans l'HSC devra être exploré. Les fibres alimentaires, qui produisent du butyrate pendant la digestion, pourraient provoquer l'apparition ou l'aggravation du SII. Une étude clinique a été réalisée pour étudier l'influence de l'enrichissement en fibres (amidon de maïs) du régime alimentaire de volontaires sains et de patientes atteintes de SII. Parallèlement, une étude microbiologique a été réalisée avec pour objectif de déterminer s'il y a une modification de composition taxonomique de la flore colique. Cette étude non publiée (réalisée dans le cadre d'une Action Thématique Concertée avec le Centre d'Investigation Clinique et le Pr Dapoigny) n'a pas donné de résultats déterminants en raison de faiblesses méthodologiques. Il apparaît cependant que les fibres diminuent le confort de vie des sujets (ballonnements, exacerbation des symptômes), accentuent l'HSC et augmentent la proportion de bactéries butyrogènes sulfato-réductrices dans le côlon. Une étude similaire pourrait être entreprise chez les rats pour *vérifier si l'augmentation de l'apport en fibres butyrogène peut avoir les mêmes conséquences que le butyrate exogène sur l'HSC.*

Point 2. Effet du butyrate sur les cellules intestinales de la muqueuse colique.

Les effets du butyrate sur l'intégrité de la muqueuse colique n'ont été étudiés que macroscopiquement. *La recherche minutieuse d'infiltrats mastocytaire et lymphocytaire et la quantification par ELISA de marqueurs inflammatoires (TNF, IL1, IL6...) devront être réalisées dans la muqueuse colique afin de déterminer la présence ou non d'une micro-inflammation chez les rats traités avec du butyrate.*

L'effet d'une infusion de butyrate sur les cellules épithéliales intestinales ou sur les lignées Caco-2 et sur les neurones entériques devra être étudié en culture cellulaire afin de déterminer s'il a un effet délétère sur leur fonction et en particulier s'il ne provoque pas la sécrétion de molécules telles que le NGF, le TNF ou les ions H⁺ ou s'il ne provoque pas la dérégulation de l'expression du transporteur (MTR1) et des récepteurs (GPR41-43) du butyrate. Différentes doses de butyrate devront être utilisées afin de différencier de

potentiels effets bénéfiques et pathogènes dépendant de la dose. Les résultats obtenus pourront être validés ensuite *in vivo* chez les animaux traités avec du butyrate.

Point 3. Effet du butyrate sur le SNE.

L'étude de l'effet du butyrate sur l'excitabilité des neurones entériques pourrait permettre de fournir une preuve de son implication dans l'HSC. Dans ce but, *la technique d'électrophysiologie sur préparation nerf-côlon est actuellement mise au point dans le laboratoire. Elle permettra de déterminer si le traitement du côlon de rat par le butyrate modifie les propriétés électrophysiologiques des neurones coliques.* L'enregistrement de l'activité du nerf pelvien pourrait permettre de confirmer l'hypothèse selon laquelle l'hyper-activité de la MEp thoracique résulte d'un défaut de l'inhibition ascendante pelvienne consécutive à une diminution de l'activité du nerf pelvien.

Point 4. Implication des canaux ASIC et du NGF au niveau colique.

Les résultats obtenus au cours de cette thèse souffrent d'une lacune importante : la mise en évidence de l'implication du NGF et des ASIC au niveau du côlon, faute de techniques adaptées. Pour pallier ce manque, plusieurs techniques sont en développement au laboratoire. Tout d'abord, *la mise au point de la canulation des artères mésentériques irriguant le côlon permettra de délivrer localement la PcTx1, l'amiloride ou les agents séquestrants du NGF et ainsi d'évaluer de façon spécifique l'effet pharmacologique de ces substances sur l'HSC induite par le butyrate.* Ensuite, l'équipement et la *mise au point d'une technique de DCR couplée à une électromyographie chez la souris permettront l'étude du rôle des canaux ASIC et du NGF sur la sensibilité colique chez des souris KO.*

Par ailleurs, nos résultats n'ont démontré aucun changement d'expression du NGF ou des canaux ASIC1 dans le côlon des animaux butyrate. Comme nous l'avons souligné, les techniques de quantification que nous avons utilisées étaient grossières. *L'usage d'un micro-dissecteur, actuellement en installation au sein du plateau d'imagerie de la Faculté de médecine de Clermont-Ferrand, pourrait permettre de prélever spécifiquement les plexi myentériques pour y quantifier l'expression des ARNm et des protéines NGF et ASIC1 dans le modèle butyrate.* De plus, *la mise en culture primaire de ces neurones entériques pourraient permettre d'étudier l'effet du butyrate sur l'expression de ces cibles moléculaires.* Celle-ci pourrait également être étudiée sur des biopsies coliques de patients atteints de SII.

Point 5. Rôle des canaux ASIC et du NGF sur les propriétés des nocicepteurs.

Bien que nous ayons montré la co-expression et la co-localisation du NGF et du canal ASIC1 dans les neurones sensoriels ainsi que l'effet d'une déplétion en NGF sur l'expression de la protéine ASIC1, l'hypothèse d'une régulation positive du NGF sur ASIC1 doit être démontrée formellement. *L'existence d'un lien éventuel entre le NGF et/ou son récepteur trkA et le canal ASIC pourra être évaluée par la technique de cross-linking, par co-immunoprécipitation ou par pull-down. L'utilisation de cultures cellulaires primaires de neurones sensoriels pourrait permettre de confirmer l'effet du NGF sur l'expression des canaux ASIC mais surtout sur leur activité et leur contribution à l'excitabilité neuronale par la mesure des courants ASIC. L'utilisation d'inhibiteurs des différentes kinases des voies de transduction du NGF (voie p75-JNK-P38 MAPK et voie trkA-PLC-PI3K-CREB) permettra de préciser le mécanisme par lequel le NGF module l'expression de ASIC1a.*

Point 6. Hyper-excitabilité de la MEp dans le modèle butyrate.

La mise en évidence d'une hyper-excitabilité de la MEp thoracique des rats traités avec du butyrate par la méthodologie Fos pourrait être confirmée par électrophysiologie in vivo en évoquant l'activité neuronale par une distension colique.

Point 7. Implication des canaux ASIC et des autres cibles moléculaires dans l'hyper-excitabilité spinale induite par le butyrate.

Nous n'avons pas exploré les mécanismes potentiels de l'hyper-excitabilité spinale dans le modèle butyrate. *L'utilisation des enregistrements électrophysiologiques des neurones spinaux après infusion d'antagonistes de nos différentes cibles pourrait permettre de démontrer leur implication centrale.* Ces données pourront être complétées par la quantification de l'expression des canaux ASIC, CaV3.2 ou NaLCN, des neurotrophines NGF et BDNF et de la CGRP par IHC. Outre la quantification de ces molécules, il pourrait être intéressant *d'étudier l'implication des récepteurs glutamatergiques, GABA-ergiques et glycinergiques afin de déterminer si l'hyper-excitabilité des neurones de la corne dorsale est associée à une modification de la proportion des synapses excitatrices et /ou inhibitrices.* Cette étude peut être réalisée avec un microscope confocal en co-localisant ces récepteurs avec la synaptophysine, un marqueur des vésicules pré-synaptiques.

E. Conclusion

L'utilisation de modèles animaux de pathologies humaines est critiquable, en particulier du fait que la physiologie animale ne peut être assimilée à la physiologie humaine et que peu de modèles animaux sont capables de reproduire la complexité des mécanismes en jeu dans une maladie donnée. Cependant, l'intérêt du modèle animal réside justement dans son imperfection. En effet, c'est en simplifiant les caractéristiques d'une pathologie (en la modélisant) que l'on peut limiter le nombre de paramètres impliqués et que la mise en évidence de mécanismes particuliers devient possible. Bien sûr, les résultats obtenus sont soumis à caution et devront subir l'épreuve des validations chez l'homme par les essais cliniques.

L'ensemble de ces travaux de thèse montrent pourtant l'intérêt des modèles animaux pour des pathologies dont l'étiologie reste impénétrable en offrant la perspective d'une meilleure compréhension des mécanismes physio-pathologiques à l'œuvre dans le SII et en offrant la perspective de l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. Ainsi, la poursuite des recherches sur la nature du lien entre le NGF et le canal ASIC1 pourrait déboucher sur un traitement des symptômes douloureux du SII.

Glossaire

GLOSSAIRE

A

Abcès intestinal

Collection de pus consécutive à l'inflammation locale du tissu intestinal.

Alexithymie

Difficulté à exprimer des sentiments.

Allèle

Forme alternative (ou variant) d'un gène situé à une position spécifique sur un chromosome spécifique. Dans les études d'association, le terme "allèle" désigne un variant d'un marqueur.

Allodynie

Douleur suscitée par un stimulus qui n'est normalement pas ressenti comme douloureux.

Amylose

Maladie dans laquelle une protéine normalement soluble est modifiée dans sa structure moléculaire et devient insoluble. Elle forme alors des agrégats de substance amyloïde qui se déposent dans les organes.

Analgesie

Interruption de la transmission du message douloureux par l'utilisation d'analgésiques. Les analgésiques sont des composés capables de soulager la douleur sans perte de conscience.

Anamnèse

Récit retraçant les antécédents médicaux et l'historique de la plainte actuelle du patient.

ANCA

Les anticorps anti-neutrophiles cytoplasmiques (ANCA) sont des anticorps dirigés contre les antigènes du cytoplasme des granulocytes neutrophiles. Dans de nombreuses maladies autoimmunes et dans la rectocolite hémorragique, un examen sanguin permet de révéler la présence de ces anticorps.

Anémie hémolytique

Déficit en hématies dû à leur destruction excessive.

Ankylostome

Ver parasite de la classe des *Nématodes*.

Antalgie

Atténuation de la transmission du message douloureux pathologique.

Anticipation génétique

Déclenchement plus précoce de la maladie génétique chez les descendants des individus atteints.

Antigène

Un antigène est une macromolécule naturelle ou synthétique, reconnue par des anticorps ou des cellules du système immunitaire et capable d'engendrer une réponse immunitaire.

Arthralgie

Douleur articulaire qui peut être associée à une inflammation.

Arthrite

L'arthrite est une inflammation aiguë ou chronique des articulations dont l'origine est rhumatismale ou infectieuse.

Arthrose

L'arthrose ou ostéoarthrose ou arthropathie chronique dégénérative est un groupe de maladies et d'anomalies mécaniques qui touche les articulations (ainsi que le cartilage articulaire et l'os sous-chondral).

ASCA

Les anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) font partie, avec les ANCA, des deux marqueurs les plus utiles pour identifier les colites. Les ASCA permettent de tendre vers un diagnostic de maladie de Crohn.

Ascite

Une ascite est un épanchement liquidien intra-abdominal ou une accumulation de liquide dans la cavité péritonéale.

Auerbach (plexus de)

Le plexus d'Auerbach est un ganglion nerveux entérique situé dans la musculature intestinale. Il assure la coordination motrice et sécréto-motrice.

Autophagie

Processus cellulaire par lequel les organites cytoplasmiques et les complexes macromoléculaires sont internalisés dans des vésicules membranaires puis dégradés dans les lysosomes. Ce processus est impliqué dans le turnover des protéines et des organites et permet de réguler leur ontogenèse.

Association

L'étude d'association est une approche statistique qui permet de tester l'association d'un marqueur ou d'allèles d'un gène candidat avec une maladie. Si une corrélation est observée entre un génotype et un phénotype, on dit qu'il existe une association entre le marqueur (ou l'allèle) et la maladie.

(ou le trait).

Axénie

Etat de stérilité, exempt de tout organisme pathogène (germe bactérien ou parasitaire).

B

Biofeedback

Thérapie qui vise à obtenir du patient le contrôle de lui-même par la prise de conscience puis le conditionnement de certaines fonctions physiologiques involontaires. Le biofeedback est notamment rendu possible grâce à l'utilisation d'appareillage de mesures biophysiques qui permettent de monitorer et d'évaluer (feedback) l'action qu'exerce le sujet sur ces propres constantes (par exemple, sa fréquence respiratoire ou cardiaque).

C

Causal

Un gène (ou un variant causal) est un gène (ou un polymorphisme génétique) spécifique qui exerce un effet sur la fonction et/ou l'expression d'une protéine qui est suspectée d'être responsable de l'association statistique observée entre ce gène (ou ce variant) et une maladie.

CBir1

CBir1 est une protéine bactérienne dérivée de la flagelline et dont la détection par des anticorps spécifiques sert de marqueur des MICI.

Cellule caliciforme

Les cellules caliciforme ou en gobelet produisent du mucus au sein de l'épithélium intestinal et pulmonaire.

Cellule géante

Cellule pluri-nucléée formée par la fusion de plusieurs cellules (fusion de macrophages dans le cas d'une inflammation) et présente dans les granulomes.

Cellule microfold

Les cellules microfold ou cellules M se trouvent dans l'épithélium associé au follicule dans la plaque de Peyer. Elles sont capables de prendre en charge un antigène de la lumière intestinale par endocytose ou phagocytose et de le délivrer par transcytose à une cellule dendritique ou un lymphocyte T situé au niveau de la membrane basolatérale.

Cellule de Paneth

Cellules différenciées de la muqueuse intestinale et se trouvant dans les cryptes intestinales de Lieberkühn. Les cellules de Paneth sécrètent des facteurs de croissance, des enzymes digestives (lysozyme) et des peptides anti-microbiens (cryptdines ou α -défensines) dans la lumière de la crypte.

Cellule présentatrice d'antigène

Les cellules présentatrices d'antigène ou CPA (monocyte, macrophage, lymphocyte B, cellule dendritique) sont des cellules qui présentent des macro-molécules d'organismes étrangers au Soi via les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité.

Cholangite sclérosante

La cholangite sclérosante est une maladie auto-immunitaire qui consiste en une inflammation des voies biliaires.

Clinique

Ensemble des symptômes que le médecin peut percevoir par la seule observation.

Colectasie

Dilatation du côlon souvent liée à la présence en excès de gaz.

Colectomie

Ablation (résection) chirurgicale du côlon.

Colite de diversion

La colite de diversion est une affection iatrogène caractérisée par une inflammation de la muqueuse d'un segment colique et/ou rectal, survenant après exclusion chirurgicale.

Colite microscopique

La colite microscopique comprend deux entités : la colite lymphocytaire et la colite collagénueuse.

Colite microscopique collagénueuse

Colite caractérisée par un infiltrat inflammatoire lympho-plasmocytaire dans la lamina propria associé à une bande de collagène sous-jacente de plus de 10mm d'épaisseur située en dessous de l'épithélium.

Colite microscopique lymphocytaire

Colite caractérisée par un infiltrat inflammatoire avec une forte densité lympho-plasmocytaire intra-épithéliale (>20 lymphocytes/100 cellules épithéliales) et une forte densité d'éosinophiles dans la lamina propria.

Côlon mégatoxique

Colectasie due à l'emballement de la réponse inflammatoire muqueuse et pouvant conduire à la rupture de la paroi intestinale et à la

libération des toxines et médiateurs inflammatoires dans le péritoine.

Complexe majeur histocompatibilité

Le complexe majeur histocompatibilité ou CMH désigne un système de reconnaissance du Soi présent chez la plupart des vertébrés. Chez l'être humain, on parle de système HLA.

Cellule de paneth

Les cellules de Paneth sont situées au fond des cryptes intestinales. Ce sont des cellules épithéliales à la double fonction de sécrétion exocrine (peptides anti-microbiens comme le lysozyme, la phospholipase A2 et les défensines) et de phagocytose de la microflore commensale. Elles contribuent donc à la défense de la barrière muqueuse intestinale.

Concordance

La concordance dans les études de jumeaux est l'existence d'un trait commun chez les deux jumeaux. La concordance peut concerner une maladie, un comportement ou un gène.

Co-morbidité

Présence d'un ou de plusieurs troubles associés à un trouble ou une maladie primaire chez un sujet.

Compliance

La compliance ou observance caractérise le respect par un sujet ou un malade des règles d'utilisation d'une thérapeutique médicamenteuse qu'il est supposé suivre dans le cadre d'une recherche biomédicale. Le sujet ou le malade est dit "observant" ou "compliant" si son comportement ne s'écarter pas de ce qui était prévu par le protocole de l'essai.

CRP

Voir "protéine C-réactive"

Crypte intestinale

La crypte intestinale est une invagination tubulaire de l'épithélium intestinal. A la base des cryptes se trouvent les cellules de Paneth aux propriétés anti-microbiennes et des cellules souches qui se divisent continuellement pour fournir des cellules épithéliales intestinales.

Cytokine

Protéine autre qu'un anticorps et sécrétée par les leucocytes inflammatoires et quelques cellules non leucocytaires. Les cytokines agissent comme des médiateurs intercellulaires mais différent des autres hormones par le fait qu'elles sont produites

par de nombreux tissus et cellules et non par une glande en particulier. Elles agissent en général localement de façon paracrine ou autocrine.

D

Décours clinique

Le décours clinique (ou histoire naturelle) d'une maladie définit l'évolution d'une maladie et de sa symptomatologie dans le temps.

Défensines

Famille de protéines possédant des propriétés bactéricides. Elles sont sécrétées par les cellules immunitaires (en particulier les neutrophiles), les cellules intestinales de Paneth cells et les cellules épithéliales.

Déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison désigne l'association non aléatoire d'allèles venant de deux loci indépendants, en raison de leur proximité physique et de l'absence de recombinaison entre eux.

Diverticulite

La diverticulite ou sigmoïdite est une infection d'un ou de plusieurs diverticules du segment sigmoïde du côlon. Les diverticules sont de petites hernies de la muqueuse intestinale au travers de la paroi musculaire du côlon et sont le plus souvent localisés sur le sigmoïde, dans lesquelles la stagnation des matières fécales peut favoriser l'infection, selon un mécanisme analogue à celui de l'appendicite.

Douleur

La douleur est la sensation ressentie par un organisme dont le système nerveux détecte un stimulus nociceptif. Selon la définition du IASP, la douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, liée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en termes d'une telle lésion.

Douleur thoracique non angineuse

La douleur thoracique non angineuse est liée à une irritation de l'œsophage (syndrome de l'œsophage irritable ou reflux gastro-intestinal). Elle fait partie des troubles fonctionnels digestifs.

Dysbiose

La dysbiose ou dysbactériose définit une condition dans laquelle l'équilibre entre les populations bactériennes de l'organismes (tractus gastro-intestinal et peau mais aussi muqueuses, ongles et yeux).

Dyspepsie

La dyspepsie rend compte d'un ensemble de symptômes chroniques de douleur ou de malaise épigastrique (dans la région supérieure de l'abdomen) dont l'origine pourrait être un reflux gastro-intestinal, une gastrite, un ulcère stomacal ou duodénal ou un cancer. Elle fait partie des troubles fonctionnels digestifs.

Dysplasie

La dysplasie décrit une déformation tissulaire résultant d'une anomalie de la maturation des cellules dans le tissu. En général, la dysplasie consiste en une expansion de cellules immatures avec une diminution concomitante du nombre de cellules matures correspondantes. Elle est souvent indicatrice d'un processus néoplasique précoce.

E**Effets atropiniques**

Effets indésirables liés à la prise de médicaments activant les récepteurs cholinergiques. Parmi ceux-ci, on trouve : dilatation de la pupille, action antispasmodique, hyper-sudation, rétention urinaire, tachycardie, confusion, convulsions, sensations vertigineuses, mydriase.

Épidémiologie

Etude des rapports existant entre les maladies et divers facteurs (mode de vie, milieu ambiant et social, particularités individuelles) susceptibles d'exercer une influence sur leur fréquence, leur distribution et leur évolution.

Erythème

Congestion de la peau ou des muqueuses qui provoque une rougeur.

Erythème noueux

Il s'agit d'une dermo-hypodermite nodulaire. La lésion élémentaire est une noue dont la formation est consécutive à une inflammation de l'hypoderme. La noue est un nodule ferme enchâssé dans la peau, rond, sensible à la palpation, parfois rouge et chaud.

Étiologie

Etude des causes des maladies.

Étiopathogénie

Etude des causes à l'origine d'un processus pathologique.

Etude randomisée contrôlée

Voir "randomized controlled trials".

Etude répliquée

Les études répliquées sont planifiées de façon à tester (ou répliquer) une hypothèse génétique antérieure. Par exemple, des études répliquées sont effectuées pour valider les découvertes faites par les études d'association génomique et ainsi discriminer les vrais des faux positifs identifiés.

F**FGID**

Functional gastrointestinal disease. Voir "trouble fonctionnel digestif".

Fibromyalgie

La fibromyalgie ou syndrome polyalgique idiopathique diffus a une étiologie inconnue. La fibromyalgie est caractérisée par une asthénie (fatigue) persistante et par des douleurs musculaires chroniques (myalgies diffuses) étendues à des régions du corps diverses et souvent présentes sous forme d'allodynie tactile.

Fissure

Fente ou déchirure dans un organe.

Fistule

Une fistule est une anastomose (jonction) anormale d'une cavité dans une autre au cours d'un processus évolutif pathologique.

G**Gangrène pyodermique**

La gangrène pyodermique ou *pyoderma gangrenosum* est une nécrose des tissus qui peut induire des ulcères profonds et qui touche en particulier les jambes. Les lésions forment des blessures chroniques responsables de douleurs et de cicatrices.

Gastroentérite à éosinophiles

La gastroentérite à éosinophiles est une gastroentérite rare et hétérogène caractérisée par une infiltration d'éosinophiles dans le tissu gastro-intestinal et dont la présentation est variable selon le lieu, la profondeur et l'étendue de l'atteinte. Ainsi, une atteinte prédominante de la muqueuse s'accompagne de nausées, vomissements, douleurs abdominales ou diarrhée ; l'atteinte de la couche musculaire provoque un syndrome obstructif et l'atteinte séreuse se traduit par une ascite riche en éosinophiles et une effusion pleurale.

Glomérulonéphrite

Atteinte inflammatoire du glomérule rénal

(unité vasculaire de filtration du rein), souvent consécutive à une infection. Elle est à l'origine d'une insuffisance rénale, d'évolution aiguë ou chronique, temporaire ou définitive.

Granulome

Le granulome est un amas de macrophages entourés de lymphocytes consécutif à une réaction inflammatoire chronique.

GWA

Les études d'association génomiques ou GWA (genome-wide association) sont des études d'association réalisées sur l'ensemble du génôme. Voir "association".

H

Hématochézie

L'hématochézie est l'émission anale de sang non digéré. Elle caractérise les hémorragies digestives basses, mais peut également résulter d'hémorragies digestives hautes abondantes.

Homozygotie

Un organisme est dit homozygote pour un gène quand il possède deux allèles identiques de ce gène sur un même locus pour chacun de ses chromosomes homologues.

Hétérozygotie

hétérozygote pour un gène quand il possède deux allèles différents de ce gène sur un même locus pour chacun de ses chromosomes homologues.

Hétérozygotie composite

En cas de maladie à transmission autosomique récessive, la personne malade est toujours homozygote. Si les deux loci ont chacun un allèle mutant différent, on parle d'hétérozygote composite.

HLA

Le système Human Leukocyte Antigen ou HLA (antigènes des leucocytes humains) définit l'ensemble des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité chez l'homme.

Hypothèse de l'hygiène

L'hypothèse de l'hygiène est une théorie sur l'étiologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin qui postule que la trop faible exposition aux agents infectieux, aux micro-organismes symbiotiques (la microflore intestinale par exemple) pendant la très jeune enfance et aux parasites augmente la susceptibilité aux maladies auto-immunitaires

et aux allergies en modulant le développement du système immunitaire.

Hyperalgie

L'hyperalgie ou hyperalgésie est une sensation douloureuse d'intensité anormalement élevée à la suite d'une stimulation douloureuse.

Hyperplasie

Augmentation du volume d'un tissu ou d'un organe due à une augmentation du nombre de ses cellules.

I

Idiosyncrasie

L'idiosyncrasie est la disposition particulière d'un individu à réagir à un événement extérieur. On peut évoquer l'idiosyncrasie immunitaire lorsque deux individus réagissent différemment à un agent pathogène.

Incidence

Nombre de cas de maladies apparus pendant une période de temps donnée au sein d'une population.

Indice d'activité de la maladie de Crohn

Le Crohn's Disease Activity Index (CDAI) est un score déterminé à partir de plusieurs symptômes, des complications cliniques, de l'examen clinique de l'hématocrite et du poids. Il forme un score standard de sévérité de la maladie utilisé pour les essais thérapeutiques. Un score inférieur à 150 est considéré comme une rémission, un score supérieur à 220 est considéré comme une activité modérée de la maladie. Une réduction du score d'au moins 70 à 100 points est nécessaire pour considérer qu'il y a une réponse à un agent thérapeutique.

Interleukine

Les interleukines sont un groupe de cytokines synthétisées par les leucocytes. Les interleukines assurent la communication entre les leucocytes pour coordonner leur maturation, leur différenciation et leur stimulation.

K

Knock-in/knock-out

Les modèles animaux de knock-in et de knock-out sont générés par des expériences de biologie moléculaire qui permettent de déléter l'expression d'un gène endogène

(knock-out) ou d'introduire un allèle spécifique d'un gène donné (knock-in).

L

Lamina propria

La lamina propria est la couche de tissu muqueux qui est juste sous la surface épithéliale muqueuse du tractus digestif et qui abrite les cellules immunitaires effectrices.

Leucocyte

Les leucocytes sont des cellules sanguines "blanches" ou globules blancs. Ils incluent les leucocytes granulaires (basophiles, éosinophiles, neutrophiles) et non granulaires (lymphocytes et monocytes).

Liaison (étude de)

Les études de liaison (ou linkage studies) ont pour but d'établir un lien entre un marqueur génétique et un locus spécifique d'une maladie. La liaison est basée sur la tendance des gènes et des marqueurs génétiques d'être hérités ensemble en raison de leur proximité sur le même chromosome.

Lithiase

Constitution, formation de calculs à l'intérieur d'un appareil contenant des glandes (glandes salivaires) ou dans un réservoir telle que la vessie (lithiase vésicale), la vésicule biliaire (lithiase vésiculaire biliaire).

Locus

Le locus désigne la position spécifique d'un gène ou d'un marqueur sur un chromosome.

LTP

La potentialisation à long terme ou LTP (long-term potentiation) désigne une amélioration de la transmission du signal entre deux neurones sur une longue durée lorsque ceux-ci sont stimulés de façon synchrone. La LTP participe à la plasticité synaptique en changeant la "force" des synapses chimiques.

Lymphocyte Th1

Le lymphocyte Th1 est un lymphocyte auxiliaire (helper) de type 1. Cette sous-classe de cellules CD4+ produit une réponse immunitaire caractéristique avec un profil de cytokines incluant l'IL2, l'IFN γ et l'IL12.

Lymphocyte Th2

Le lymphocyte Th2 est un lymphocyte auxiliaire (helper) de type 2. Cette sous-classe de cellules CD4+ produit une réponse immunitaire caractéristique avec un profil de cytokines incluant l'IL4, l'IL5 et l'IL13.

Lymphocyte Th17

Les lymphocytes T helper 17 appartiennent à une sous-classe de cellules CD4+ T qui produit l'IL17 et jouerait un rôle important dans les maladies inflammatoires et auto-immunitaires. Leur génération implique le TGF β , l'IL 6, l'IL 23 ou l'IL 21, l'IL1 β et les facteurs de transcription ROR γ t et STAT3.

Lymphome

Le lymphoma est un cancer des lymphocytes qui forment une tumeur solide, souvent présente à l'origine dans les organes lymphoïdes secondaires (ganglions lymphoïdes).

Lymphangiectasie

La lymphangiectasie intestinale est une dilation pathologique des vaisseaux lymphatiques qui s'accompagne de diarrhées et d'anémie protéines telles que l'albumine sérique et la globuline. C'est une forme chronique d'entéropathie par perte protéique.

M

MAP

La détection des anticorps anti-MAP (pour *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*) est utilisée comme marqueur des MICI.

MICI

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) regroupent les maladies liées à l'inflammation de l'intestin à caractère chronique et dont l'origine est inconnue. Les deux principales formes sont la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique.

Maladie coeliaque

La maladie coeliaque ou intolérance au gluten est une maladie auto-immune, caractérisée par une atteinte de tout ou partie des villosités recouvrant l'intestin grêle. Il en résulte une malabsorption et donc des carences alimentaires.

Maladie de Crohn

La maladie de Crohn ou MC est l'une des deux principales formes de maladie inflammatoire chronique de l'intestin, d'étiologie inconnue. Elle provoque une inflammation du tractus gastrointestinal, à n'importe quel niveau mais affectant l'iléon terminal chez plus de 70% des individus.

Marqueurs génétiques

Les marqueurs génétiques sont des variants

génomiques utilisés comme des repères positionnels afin de trouver des associations entre des fragments d'ADN et un certain phénotype ou une certaine maladie.

Meissner (plexus de)

Le plexus de Meissner est un ganglion nerveux entérique situé dans la sous-muqueuse intestinale. Il assure la communication entre les terminaisons nerveuses de la lamina propria et les plexi d'Auerbach.

Méta-analyse

Une méta-analyse est une démarche statistique combinant les résultats de plusieurs études indépendantes sur un problème donné. En clinique, elle permet une analyse plus précise des données par l'augmentation du nombre de cas étudiés et d'en tirer une conclusion globale. Appliquée aux études d'association génomique, elle augmente la puissance et la probabilité d'identifier une association modeste.

Métaplasie

La métaplasie définit la transformation d'un tissu cellulaire différencié en un autre tissu cellulaire différencié. Il s'agit d'un phénomène adaptatif et réversible qui se produit le plus souvent en réponse à une agression tissulaire répétée et prolongée (inflammation, irritation mécanique ou chimique, infection) afin que le tissu de remplacement puisse lutter contre l'agression.

Métastase

Une métastase est la croissance d'un organisme pathogène ou d'une cellule tumorale à distance du site initialement atteint.

Morbidité

Nombre des malades dans un groupe donné pendant un temps déterminé ; ensemble des causes qui peuvent produire une maladie.

N

Néoplasie

La néoplasie est une prolifération incontrôlée de cellules.

Néoplasme

Le néoplasme est une masse anormale de tissu néoformé à partir d'une néoplasie.

Nociception

La nociception définit l'ensemble des phénomènes permettant l'intégration au niveau du système nerveux central d'un

stimulus douloureux via l'activation des nocicepteurs (ou récepteurs à la douleur) en périphérie.

Nosologie

Discipline médicale qui étudie les caractères distinctifs des maladies en vue de leur classification systématique.

O

Odds ratio

Le rapport des probabilités d'association entre un variant génétique et une maladie ou odds ratio est une mesure d'association utilisée couramment dans les études cliniques contrôlées. Il se définit comme le rapport des chances qu'un événement arrivant, par exemple une maladie, à un groupe de personnes A arrive également à un autre groupe B. S'il est proche de 1, la maladie est indépendante du groupe, s'il est supérieur à 1 la maladie est plus fréquente dans le groupe A.

Odynophagie

L'odynophagie est une douleur pharyngée ou œsophagienne lors de la déglutition.

OmpC et OmpW

La détection de OmpC et de OmpW, des porines ou molécules formant les pores de la paroi de certaines bactéries (*Escherichia coli*, *Bacteroides caccae*) par des anticorps spécifiques sert de marqueur des MICI.

Orosomucoïde

L'orosomucoïde ou glycoprotéine acide $\alpha 1$ est une globuline plasmatique qui prend en charge les composés basiques (alors que l'albumine prend en charge les composés acides) tels que les stéroïdes et les inhibiteurs de protéases. Le taux d'orosomucoïde est augmenté dans les infections intestinales.

Ostéoporose

L'ostéoporose est une perte progressive de masse osseuse, qui se traduit par une diminution de la densité osseuse.

P

PAMP

Les patrons moléculaires associés aux pathogènes ou PAMP (pathogen-associated molecular patterns) décrivent des molécules associées à des groupes de pathogènes qui

sont reconnus par les cellules de l'immunité innée via des récepteurs spécifiques appelés PRR comme les récepteurs Toll-like. Ces molécules peuvent être considérées comme des motifs moléculaires de petite taille conservés entre les classes de microbes.

Pathovar

Un pathovar est une souche bactérienne, ou un ensemble de souches présentant des caractéristiques similaires, qui se différencie des autres souches de la même espèce par une pathogénicité particulière vis-à-vis d'un hôte donné.

Pégylation

La pégylation a pour but d'augmenter la durée d'efficacité d'un agent pharmaceutique en diminuant sa cinétique d'élimination. Pour cela, le poids moléculaire de la molécule est augmenté par sa liaison à un groupement polyéthylène glycol (pégy), soluble dans l'eau, rapidement éliminé de l'organisme et surtout non toxique. Cette pégylation diminue la clairance rénale du médicament, prolonge sa demi-vie et augmente sa concentration plasmatique.

Pénétrance

La pénétrance correspond à la probabilité qu'un phénotype soit exprimé chez des individus avec un génotype spécifique, dans des conditions environnementales données. Par exemple, si 50% des gens avec un gène "X" connu pour être responsable d'une maladie développent véritablement la maladie, on dira que la pénétrance du gène "X" est de 0,5.

Physiopathologie

La physiopathologie étudie les effets d'une maladie sur l'organisme et les mécanismes qui produisent ces effets.

Plaques de Peyer

Les plaques de Peyer font partie du GALT (gut associated lymphoid tissue). Ce sont de volumineux agrégats de follicules lymphoïdes primaires et secondaires siégeant dans la sous muqueuse de la partie terminale de l'iléon. Elles possèdent un épithélium particulier possédant des cellules M et qui assure une surveillance immunitaire de la lumière intestinale tout en facilitant la génération de la réponse immunitaire en faisant l'interface avec les cellules immunitaires de la muqueuse.

Plasmacytose

La plasmacytose est une condition dans laquelle une forte et inhabituelle concentration de plasmocytes est retrouvée

dans les tissus, les exudats ou le sang.

Pleuro-péricardite

Inflammation de la plèvre et du péricarde.

PLT

Potentialisation à long terme. Voir "LTP".

Pouchite

Les patients avec une MICI qui subissent une colectomie avec anastomose iléo-anale présentent une "poche" rectale formée à partir de l'iléon. La pouchite est une inflammation de cette poche et touche près de 50% des patients.

PRR

Les récepteurs reconnaissant les motifs pathogènes ou PRR (pattern recognition receptor) sont des protéines exprimées par les cellules de l'immunité innée afin d'identifier les motifs microbiens pathogènes PAMP, qui sont associés à des microbes pathogènes ou des stress cellulaires.

Prébiotique

Un prébiotique est un produit non digestible (en général, un carbohydrate complexe) qui améliore la prolifération de certaines bactéries afin de modifier la composition microbienne et d'induire un effet thérapeutique.

Pré-morbidité

Ensemble de signes cliniques observés avant une maladie et laissant présumer un déclenchement futur.

Prévalence

Nombre de cas de maladies ou d'événements médicaux enregistré dans une population déterminée.

Probiotique

Un médicament probiotique désigne un produit contenant des bactéries vivantes utilisées comme agent thérapeutique pour induire un effet bénéfique en modifiant l'équilibre des populations bactériennes intestinales.

Proctocolectomie

Ablation chirurgicale du côlon et du rectum.

Prodrome

Le prodrome est le symptôme avant-coureur d'une maladie.

Protéine C-réactive

La protéine C-réactive ou CRP (C-reactive protein) est une protéine du sang pouvant se fixer sur les polysaccharides bactériens et sur les immunoglobulines IgG et pouvant activer le système du complément. La CRP est un marqueur précoce, sensible et spécifique de l'inflammation, et dont la concentration est

proportionnelle à son intensité.

Psoriasis

Le psoriasis est une affection de la peau (dermatose) pouvant s'étendre à la totalité du corps. Son origine est mal connue mais en partie génétique. Elle touche 1 à 3% de la population mondiale, aussi bien chez les femmes que chez les hommes.

R

Randomized controlled trials

Les "randomized controlled trials" (RCT) sont des études cliniques de l'effet d'une intervention thérapeutique (par exemple un médicament) qui sont contrôlées pour plusieurs biais méthodologiques possibles. Les patients éligibles sont répartis de manière aléatoire en 2 groupes (groupe recevant le traitement et groupe recevant un placebo) afin de s'assurer que les patients répartis dans les 2 groupes de l'essai sont rigoureusement semblables en tous points, excepté en ce qui concerne l'intervention projetée. De plus, l'étude est réalisée en aveugle (le patient ne sait pas s'il est traité avec le placebo ou non) ou en double aveugle (ni le patient ni le médecin ne savent quel groupe est traité avec le placebo) de manière à écarter tout biais éventuel lié ou à l'influence du médecin.

Rectocolite hémorragique

La rectocolite hémorragique ou RCH est l'une des deux principales formes de maladie inflammatoire chronique de l'intestin, d'étiologie inconnue. Elle provoque une inflammation du côlon et du rectum.

Rémission

Dans les MICI, la rémission se réfère aux patients asymptomatiques ou à ceux qui n'ont pas de séquelles inflammatoires, y compris les patients qui ont répondu de façon bénéfique aux interventions médicales ou chirurgicales, en l'absence de signes résiduels de maladie.

Réponse immunitaire adaptative

Le système immunitaire adaptatif comprend les éléments du système immunitaire qui génèrent une réaction spécifique à un pathogène bien identifié. Par exemple, la production d'un anticorps dirigé contre un antigène particulier par un lymphocyte B.

Réponse immunitaire innée

Le système immunitaire inné comprend les

éléments du système immunitaire qui génèrent une réaction non spécifique à un pathogène potentiel. Par exemple, la libération de cytokines pro-inflammatoires et d'espèces oxygénées réactives pour la fonction bactéricide.

Rhumatisme

Le rhumatisme est un terme non spécifique désignant une affection de l'appareil locomoteur (os, articulations, muscles, tendons et ligaments) d'origines neurologique, inflammatoire et auto-immunitaire.

S

Sarcoïdose

La sarcoïdose ou maladie de Besnier-Boeck-Schaumann est une maladie inflammatoire lymphogranulomateuse systémique de cause inconnue. Elle est caractérisée par des granulomes qui peuvent atteindre n'importe quel organe mais apparaissent préférentiellement dans les poumons et les ganglions lymphatiques. Bien que généralement bénigne, le décours clinique de la maladie varie d'une maladie asymptomatique à une maladie chronique invalidante pouvant entraîner la mort.

Sclérite

Inflammation de la sclère. La sclère est une enveloppe dure et très résistante recouvrant l'œil sur presque toute sa surface, de coloration blanche, se prolongant par la cornée (transparente) en avant et par une petite ouverture postérieure (en arrière) laissant le passage au nerf optique.

Séméiologie

Etude des signes cliniques des maladies.

Séquence I2

La détection de la séquence I2 d'ADN bactérien (*Pseudomonas fluorescens*) par des anticorps spécifiques sert de marqueur des MICI.

SNP

Un polymorphisme nucléotidique simple ou SNP (single-nucleotide polymorphism) est typiquement une substitution bi-allélique de base. C'est la forme la plus commune de polymorphisme génétique. Les SNP (leur nombre et leur localisation génomique) peuvent être utilisés comme marqueurs génomique pour les études de liaison. Le HapMap Project catalogue les marqueurs

SNP de tout le génôme.

Soi

En immunologie, le Soi désigne l'ensemble des constituants propres à un organisme par opposition au Non-Soi qui fait référence à tous les antigènes extérieurs à l'organisme et donc potentiellement capables de déclencher une réaction du système immunitaire.

Spondylarthropathie

Les spondylarthropathies sont un groupe de pathologies inflammatoires du rachis comprenant la spondylarthrite ankylosante, la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique, les rhumatismes psoriasiques et les arthropathies des entéropathies inflammatoires chroniques.

Spondylarthrite ankylosante

La spondylarthrite ankylosante est une forme de spondylarthropathie. C'est une arthrite inflammatoire chronique et auto-immune. Elle atteint le plus souvent les articulations du rachis et du pelvis.

Sténose

Une sténose est une modification anatomique qui se traduit par un rétrécissement d'une structure (canal, vaisseau, intestin).

Stricturoplastie

La stricturoplastie est une technique qui consiste à ne pas la réséquer une sténose de Crohn mais à l'ouvrir largement pour ensuite faire une suture transversale et permettre son élargissement.

Syndrome

Association de plusieurs symptômes, signes ou anomalies constituant une entité clinique reconnaissable soit par l'uniformité de l'association des manifestations morbides soit par le fait qu'elle traduit l'atteinte d'un organe ou d'un système bien défini.

Syndrome de fatigue chronique

Le syndrome de fatigue chronique est un état de fatigue répété et récurrent sans cause identifiée et qui n'est pas amélioré par le repos. Il est considéré comme une maladie neurologique grave.

Syndrome de l'intestin irritable

Le syndrome de l'intestin irritable ou SII est un trouble fonctionnel digestif caractérisé par des douleurs abdominales, des troubles du transit intestinal et des ballonnements en l'absence de toute atteinte inflammatoire de

la muqueuse. Son étiologie n'est pas connue.

Syndrome de Behçet

La maladie de Behçet est une vascularite à forte composante génétique et probablement auto-immunitaire. Elle est décrite sous forme d'une triade : aphtose buccale, aphtose génitale, uvéite.

I

Trouble fonctionnel digestif

Les troubles fonctionnels digestifs ou FGID (functional gastrointestinal disease) se réfèrent à un groupe de maladies du tractus gastro-intestinal qui est caractérisé par des douleurs abdominales chroniques sans cause structurelle ou biochimique pouvant les expliquer. Les FGID comprennent la dyspepsie fonctionnelle, la douleur thoracique non angineuse, la douleur chronique abdominale, la constipation fonctionnelle et le syndrome de l'intestin irritable

Trouble fonctionnel intestinal

Les troubles fonctionnels intestinaux ou TFI regroupent les FGID affectant l'intestin et principalement le syndrome de l'intestin irritable.

V

Vascularite

Inflammation des vaisseaux sanguins.

Vidéocapsule

Caméra vidéo miniaturisée ingérable

W

Wind-up

Le phénomène de "wind-up" consiste en une augmentation de l'amplitude des réponses des neurones spinaux à une stimulation répétée d'intensité constante des fibres C. Il s'agit d'un processus de sommation temporelle.

Références

REFERENCES

- Accarino AM, Azpiroz F, Malagelada JR (1995) Selective dysfunction of mechanosensitive intestinal afferents in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 108:636-643.
- Aggarwal A, Cutts TF, Abell TL, Cardoso S, Familoni B, Bremer J, Karas J (1994) Predominant symptoms in irritable bowel syndrome correlate with specific autonomic nervous system abnormalities. *Gastroenterology* 106:945-950.
- Akbar A, Yiangou Y, Facer P, Walters JR, Anand P, Ghosh S (2008) Increased capsaicin receptor TRPV1-expressing sensory fibres in irritable bowel syndrome and their correlation with abdominal pain. *Gut* 57:923-929.
- Akehurst R, Kaltenthaler E (2001) Treatment of irritable bowel syndrome: a review of randomised controlled trials. *Gut* 48:272-282.
- Akopian AN, Chen CC, Ding Y, Cesare P, Wood JN (2000) A new member of the acid-sensing ion channel family. *Neuroreport* 11:2217-2222.
- Akopian AN, Souslova V, England S, Okuse K, Ogata N, Ure J, Smith A, Kerr BJ, McMahon SB, Boyce S, Hill R, Stanfa LC, Dickenson AH, Wood JN (1999) The tetrodotoxin-resistant sodium channel SNS has a specialized function in pain pathways. *Nat Neurosci* 2:541-548.
- Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ (2000) A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 119:1276-1285.
- Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S (2004) Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res* 1000:40-56.
- Aloe L, Levi-Montalcini R (1977) Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res* 133:358-366.
- Altman G, Cain KC, Motzer S, Jarrett M, Burr R, Heitkemper M (2006) Increased symptoms in female IBS patients with dysmenorrhea and PMS. *Gastroenterol Nurs* 29:4-11.
- Alvarez de la Rosa D, Zhang P, Shao D, White F, Canessa CM (2002) Functional implications of the localization and activity of acid-sensitive channels in rat peripheral nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:2326-2331.
- Amann R, Egger T, Schuligoi R (2000) The tachykinin NK(1) receptor antagonist SR140333 prevents the increase of nerve growth factor in rat paw skin induced by substance P or neurogenic inflammation. *Neuroscience* 100:611-615.
- Amaya F, Wang H, Costigan M, Allchorne AJ, Hatcher JP, Egerton J, Stean T, Morisset V, Grose D, Gunthorpe MJ, Chessell IP, Tate S, Green PJ, Woolf CJ (2006) The voltage-gated sodium channel Na(v)1.9 is an effector of peripheral inflammatory pain hypersensitivity. *J Neurosci* 26:12852-12860.
- Amir R, Argoff CE, Bennett GJ, Cummins TR, Durieux ME, Gerner P, Gold MS, Porreca F, Strichartz GR (2006) The role of sodium channels in chronic inflammatory and neuropathic pain. *J Pain* 7:S1-29.
- Anand P, Aziz Q, Willert R, van Oudenhove L (2007) Peripheral and central mechanisms of visceral sensitization in man. *Neurogastroenterol Motil* 19:29-46.
- Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A (2003) Appendectomy is followed by increased risk of Crohn's disease. *Gastroenterology* 124:40-46.
- Andoh A, Yagi Y, Shioya M, Nishida A, Tsujikawa T, Fujiyama Y (2008) Mucosal cytokine network in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 14:5154-5161.

- Annese V, Bassotti G, Napolitano G, Usai P, Andriulli A, Vantrappen G (1997) Gastrointestinal motility disorders in patients with inactive Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 32:1107-1117.
- Arborelius L, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB (1999) The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *J Endocrinol* 160:1-12.
- Averill S, McMahon SB, Clary DO, Reichardt LF, Priestley JV (1995) Immunocytochemical localization of trkA receptors in chemically identified subgroups of adult rat sensory neurons. *Eur J Neurosci* 7:1484-1494.
- Azpiroz F, Bouin M, Camilleri M, Mayer EA, Poitras P, Serra J, Spiller RC (2007) Mechanisms of hypersensitivity in IBS and functional disorders. *Neurogastroenterol Motil* 19:62-88.
- Babidge W, Millard S, Roediger W (1998) Sulfides impair short chain fatty acid beta-oxidation at acyl-CoA dehydrogenase level in colonocytes: implications for ulcerative colitis. *Mol Cell Biochem* 181:117-124.
- Bajaj P, Arendt-Nielsen L, Bajaj P, Madsen H (2001) Sensory changes during the ovulatory phase of the menstrual cycle in healthy women. *Eur J Pain* 5:135-144.
- Bajic D, Van Bockstaele EJ, Proudfit HK (2001) Ultrastructural analysis of ventrolateral periaqueductal gray projections to the A7 catecholamine cell group. *Neuroscience* 104:181-197.
- Bakshi VP, Kalin NH (2000) Corticotropin-releasing hormone and animal models of anxiety: gene-environment interactions. *Biol Psychiatry* 48:1175-1198.
- Balsari A, Ceccarelli A, Dubini F, Fesce E, Poli G (1982) The fecal microbial population in the irritable bowel syndrome. *Microbiologica* 5:185-194.
- Bamias G, Sugawara K, Pagnini C, Cominelli F (2003) The Th1 immune pathway as a therapeutic target in Crohn's disease. *Curr Opin Investig Drugs* 4:1279-1286.
- Banerjee B, Medda BK, Zheng Y, Miller H, Miranda A, Sengupta JN, Shaker R (2009) Alterations in N-methyl-D-aspartate receptor subunits in primary sensory neurons following acid-induced esophagitis in cats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 296:G66-77.
- Banner SE, Sanger GJ (1995) Differences between 5-HT₃ receptor antagonists in modulation of visceral hypersensitivity. *Br J Pharmacol* 114:558-562.
- Barada KA, Mourad FH, Sawah SI, Khoury C, Safieh-Garabedian B, Nassar CF, Tawil A, Jurjus A, Saade NE (2007) Up-regulation of nerve growth factor and interleukin-10 in inflamed and non-inflamed intestinal segments in rats with experimental colitis. *Cytokine* 37:236-245.
- Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Corinaldesi R (2006) Functional gastrointestinal disorders and mast cells: implications for therapy. *Neurogastroenterol Motil* 18:6-17.
- Barbara G, De Giorgio R, Stanghellini V, Cremon C, Salvioli B, Corinaldesi R (2004a) New pathophysiological mechanisms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 20 Suppl 2:1-9.
- Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Cremon C, Cottrell GS, Santini D, Pasquinelli G, Morselli-Labate AM, Grady EF, Bunnett NW, Collins SM, Corinaldesi R (2004b) Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 126:693-702.
- Barbara G, Wang B, Stanghellini V, de Giorgio R, Cremon C, Di Nardo G, Trevisani M, Campi B, Geppetti P, Tonini M, Bunnett NW, Grundy D, Corinaldesi R (2007) Mast cell-dependent excitation of visceral-nociceptive sensory neurons in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 132:26-37.
- Baron A, Voilley N, Lazdunski M, Lingueglia E (2008) Acid sensing ion channels in dorsal spinal cord neurons. *J Neurosci* 28:1498-1508.

- Barreau F, Cartier C, Leveque M, Ferrier L, Moriez R, Laroute V, Rosztoczy A, Fioramonti J, Bueno L (2007) Pathways involved in gut mucosal barrier dysfunction induced in adult rats by maternal deprivation: corticotrophin-releasing factor and nerve growth factor interplay. *J Physiol* 580:347-356.
- Barsky AJ, Peekna HM, Borus JF (2001) Somatic symptom reporting in women and men. *J Gen Intern Med* 16:266-275.
- Bassi A, Dodd S, Williamson P, Bodger K (2004) Cost of illness of inflammatory bowel disease in the UK: a single centre retrospective study. *Gut* 53:1471-1478.
- Baumgart DC, Sandborn WJ (2007) Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 369:1641-1657.
- Baumgart DC, Carding SR (2007) Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 369:1627-1640.
- Bennett DL (2001) Neurotrophic factors: important regulators of nociceptive function. *Neuroscientist* 7:13-17.
- Bennett EJ, Tennant CC, Piesse C, Badcock CA, Kellow JE (1998) Level of chronic life stress predicts clinical outcome in irritable bowel syndrome. *Gut* 43:256-261.
- Bennett G, Talley NJ (2002) Irritable bowel syndrome in the elderly. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 16:63-76.
- Berg RD (1996) The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 4:430-435.
- Berkley KJ (1997) Sex differences in pain. *Behav Brain Sci* 20:371-380; discussion 435-513.
- Berkley KJ, Zalcman SS, Simon VR (2006) Sex and gender differences in pain and inflammation: a rapidly maturing field. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291:R241-244.
- Berman S, Munakata J, Naliboff BD, Chang L, Mandelkern M, Silverman D, Kovalik E, Mayer EA (2000) Gender differences in regional brain response to visceral pressure in IBS patients. *Eur J Pain* 4:157-172.
- Berman SM, Naliboff BD, Suyenobu B, Labus JS, Stains J, Ohning G, Kilpatrick L, Bueller JA, Ruby K, Jarcho J, Mayer EA (2008) Reduced brainstem inhibition during anticipated pelvic visceral pain correlates with enhanced brain response to the visceral stimulus in women with irritable bowel syndrome. *J Neurosci* 28:349-359.
- Bertin J, Nir WJ, Fischer CM, Tayber OV, Errada PR, Grant JR, Keilty JJ, Gosselin ML, Robison KE, Wong GH, Glucksmann MA, DiStefano PS (1999) Human CARD4 protein is a novel CED-4/Apaf-1 cell death family member that activates NF-kappaB. *J Biol Chem* 274:12955-12958.
- Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK (2006) Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 441:235-238.
- Beyak MJ, Vanner S (2005) Inflammation-induced hyperexcitability of nociceptive gastrointestinal DRG neurones: the role of voltage-gated ion channels. *Neurogastroenterol Motil* 17:175-186.
- Beyak MJ, Ramji N, Krol KM, Kawaja MD, Vanner SJ (2004) Two TTX-resistant Na⁺ currents in mouse colonic dorsal root ganglia neurons and their role in colitis-induced hyperexcitability. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 287:G845-855.
- Bharucha AE, Camilleri M, Zinsmeister AR, Hanson RB (1997) Adrenergic modulation of human colonic motor and sensory function. *Am J Physiol* 273:G997-1006.
- Bibiloni R, Fedorak RN, Tannock GW, Madsen KL, Gionchetti P, Campieri M, De Simone C, Sartor RB (2005) VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 100:1539-1546.
- Bielefeldt K, Lamb K, Gebhart GF (2006) Convergence of sensory pathways in the

- development of somatic and visceral hypersensitivity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291:G658-665.
- Binder V (2004) Epidemiology of IBD during the twentieth century: an integrated view. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 18:463-479.
- Binder V, Orholm M (1996) Familial occurrence and inheritance studies in inflammatory bowel disease. *Neth J Med* 48:53-56.
- Birder LA, Kiss S, de Groat WC, Lecci A, Maggi CA (2003) Effect of nepadutant, a neurokinin 2 tachykinin receptor antagonist, on immediate-early gene expression after trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 304:272-276.
- Bittner AC, Croffut RM, Stranahan MC, Yokelson TN (2007) Prescript-assist probiotic-prebiotic treatment for irritable bowel syndrome: an open-label, partially controlled, 1-year extension of a previously published controlled clinical trial. *Clin Ther* 29:1153-1160.
- Bitton A, Peppercorn MA, Antonioli DA, Niles JL, Shah S, Bousvaros A, Ransil B, Wild G, Cohen A, Edwardes MD, Stevens AC (2001) Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 120:13-20.
- Blackshaw LA, Gebhart GF (2002) The pharmacology of gastrointestinal nociceptive pathways. *Curr Opin Pharmacol* 2:642-649.
- Blaukat A (2003) Structure and signalling pathways of kinin receptors. *Andrologia* 35:17-23.
- Bleakman D, Alt A, Nisenbaum ES (2006) Glutamate receptors and pain. *Semin Cell Dev Biol* 17:592-604.
- Bloodgood BL, Sabatini BL (2008) Regulation of synaptic signalling by postsynaptic, non-glutamate receptor ion channels. *J Physiol* 586:1475-1480.
- Bonen DK, Cho JH (2003) The genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 124:521-536.
- Bonnington JK, McNaughton PA (2003) Signalling pathways involved in the sensitisation of mouse nociceptive neurones by nerve growth factor. *J Physiol* 551:433-446.
- Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O (2003) Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 37:42-47.
- Bossuyt X (2006) Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Chem* 52:171-181.
- Boudeau J, Glasser AL, Masseret E, Joly B, Darfeuille-Michaud A (1999) Invasive ability of an *Escherichia coli* strain isolated from the ileal mucosa of a patient with Crohn's disease. *Infect Immun* 67:4499-4509.
- Bouhassira D, Villanueva L, Bing Z, le Bars D (1992) Involvement of the subnucleus reticularis dorsalis in diffuse noxious inhibitory controls in the rat. *Brain Res* 595:353-357.
- Bouin M, Meunier P, Riberdy-Poitrass M, Poitrass P (2001) Pain hypersensitivity in patients with functional gastrointestinal disorders: a gastrointestinal-specific defect or a general systemic condition? *Dig Dis Sci* 46:2542-2548.
- Bourdu S, Dapoigny M, Chapuy E, Artigue F, Vasson MP, Dechelotte P, Bommelaer G, Eschalier A, Ardid D (2005) Rectal instillation of butyrate provides a novel clinically relevant model of noninflammatory colonic hypersensitivity in rats. *Gastroenterology* 128:1996-2008.
- Bourinet E, Zamponi GW (2005) Voltage gated calcium channels as targets for analgesics. *Curr Top Med Chem* 5:539-546.
- Bourinet E, Alloui A, Monteil A, Barrere C, Couette B, Poirot O, Pages A, McRory J,

- Snutch TP, Eschalier A, Nargeot J (2005) Silencing of the Cav3.2 T-type calcium channel gene in sensory neurons demonstrates its major role in nociception. *Embo J* 24:315-324.
- Bowles WR, Sabino M, Harding-Rose C, Hargreaves KM (2004) Nerve growth factor treatment enhances release of immunoreactive calcitonin gene-related peptide but not substance P from spinal dorsal horn slices in rats. *Neurosci Lett* 363:239-242.
- Boyer L, Ghoreishi M, Templeman V, Vallance BA, Buchan AM, Jevon G, Jacobson K (2005) Myenteric plexus injury and apoptosis in experimental colitis. *Auton Neurosci* 117:41-53.
- Bradesi S, Eutamene H, Garcia-Villar R, Fioramonti J, Bueno L (2003) Stress-induced visceral hypersensitivity in female rats is estrogen-dependent and involves tachykinin NK1 receptors. *Pain* 102:227-234.
- Brandao ML, Anseloni VZ, Pandossio JE, De Araujo JE, Castilho VM (1999) Neurochemical mechanisms of the defensive behavior in the dorsal midbrain. *Neurosci Biobehav Rev* 23:863-875.
- Brandt LJ, Bjorkman D, Fennerty MB, Locke GR, Olden K, Peterson W, Quigley E, Schoenfeld P, Schuster M, Talley N (2002) Systematic review on the management of irritable bowel syndrome in North America. *Am J Gastroenterol* 97:S7-26.
- Brierley SM, Page AJ, Hughes PA, Adam B, Liebrechts T, Cooper NJ, Holtmann G, Liedtke W, Blackshaw LA (2008) Selective role for TRPV4 ion channels in visceral sensory pathways. *Gastroenterology* 134:2059-2069.
- Brun-Strang C, Dapoigny M, Lafuma A, Wainsten JP, Fagnani F (2007) Irritable bowel syndrome in France: quality of life, medical management, and costs: the Encoli study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 19:1097-1103.
- Bueno L, de Ponti F, Fried M, Kullak-Ublick GA, Kwiatek MA, Pohl D, Quigley EM, Tack J, Talley NJ (2007) Serotonergic and non-serotonergic targets in the pharmacotherapy of visceral hypersensitivity. *Neurogastroenterol Motil* 19:89-119.
- Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann D, Dignass A, Kuechler I, Krueger S, Schmidt HH, Lochs H (2006) Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut* 55:342-347.
- Burden S (2001) Dietary treatment of irritable bowel syndrome: current evidence and guidelines for future practice. *J Hum Nutr Diet* 14:231-241.
- Burkey AR, Carstens E, Jasmin L (1999) Dopamine reuptake inhibition in the rostral agranular insular cortex produces antinociception. *J Neurosci* 19:4169-4179.
- Burroughs AK, McCormick PA (1991) Somatostatin and octreotide in gastroenterology. *Aliment Pharmacol Ther* 5:331-341.
- Bustin SA (2000) Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol* 25:169-193.
- Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennerz JK, Kishi C, Kc W, Carrero JA, Hunt S, Stone CD, Brunt EM, Xavier RJ, Sleckman BP, Li E, Mizushima N, Stappenbeck TS, Virgin HWt (2008) A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature* 456:259-263.
- Caldji C, Diorio J, Meaney MJ (2000) Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. *Biol Psychiatry* 48:1164-1174.
- Calkins BM (1989) A meta-analysis of the role of smoking in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 34:1841-1854.
- Calvino B, Villanueva L, Le Bars D (1984) The heterotopic effects of visceral pain: behavioural and electrophysiological approaches in the rat. *Pain* 20:261-271.
- Cameron AA, Khan IA, Westlund KN, Willis WD (1995a) The efferent projections of the periaqueductal gray in the rat: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study. II.

- Descending projections. *J Comp Neurol* 351:585-601.
- Cameron AA, Khan IA, Westlund KN, Cliffer KD, Willis WD (1995b) The efferent projections of the periaqueductal gray in the rat: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study. I. Ascending projections. *J Comp Neurol* 351:568-584.
- Camilleri M (2001) Management of the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 120:652-668.
- Camilleri M (2008) Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, mechanisms, and efficacy. *J Clin Gastroenterol* 42 Suppl 3 Pt 1:S123-125.
- Camilleri M, Atanasova E, Carlson PJ, Ahmad U, Kim HJ, Viramontes BE, McKinzie S, Urrutia R (2002) Serotonin-transporter polymorphism pharmacogenetics in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 123:425-432.
- Camilleri M, Kim DY, McKinzie S, Kim HJ, Thomforde GM, Burton DD, Low PA, Zinsmeister AR (2003) A randomized, controlled exploratory study of clonidine in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 1:111-121.
- Canetti L, Bachar E, Galili-Weisstub E, De-Nour AK, Shalev AY (1997) Parental bonding and mental health in adolescence. *Adolescence* 32:381-394.
- Card T, Logan RF, Rodrigues LC, Wheeler JG (2004) Antibiotic use and the development of Crohn's disease. *Gut* 53:246-250.
- Cario E, Podolsky DK (2000) Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infect Immun* 68:7010-7017.
- Cartun RW, Van Kruiningen HJ, Pedersen CA, Berman MM (1993) An immunocytochemical search for infectious agents in Crohn's disease. *Mod Pathol* 6:212-219.
- Castagliuolo I, Lamont JT, Qiu B, Fleming SM, Bhaskar KR, Nikulasson ST, Kornetsky C, Pothoulakis C (1996) Acute stress causes mucin release from rat colon: role of corticotropin releasing factor and mast cells. *Am J Physiol* 271:G884-892.
- Caterina MJ, Julius D (2001) The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu Rev Neurosci* 24:487-517.
- Caterina MJ, Rosen TA, Tominaga M, Brake AJ, Julius D (1999) A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature* 398:436-441.
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389:816-824.
- Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeit KR, Koltzenburg M, Basbaum AI, Julius D (2000) Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science* 288:306-313.
- Catterall WA, Trainer V, Baden DG (1992) Molecular properties of the sodium channel: a receptor for multiple neurotoxins. *Bull Soc Pathol Exot* 85:481-485.
- Cavaglieri CR, Nishiyama A, Fernandes LC, Curi R, Miles EA, Calder PC (2003) Differential effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro- and anti-inflammatory cytokines by cultured lymphocytes. *Life Sci* 73:1683-1690.
- Caviglia R, Boskoski I, Cicala M (2008) Long-term treatment with infliximab in inflammatory bowel disease: safety and tolerability issues. *Expert Opin Drug Saf* 7:617-632.
- Cervero F (1994) Sensory innervation of the viscera: peripheral basis of visceral pain. *Physiol Rev* 74:95-138.
- Cervero F, Lumb BM, Tattersall JE (1985) Supraspinal loops that mediate visceral inputs to thoracic spinal cord neurones in the cat: involvement of descending pathways

- from raphe and reticular formation. *Neurosci Lett* 56:189-194.
- Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, Wilson I (2002) Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 122:1778-1783.
- Chan CL, Facer P, Davis JB, Smith GD, Egerton J, Bountra C, Williams NS, Anand P (2003) Sensory fibres expressing capsaicin receptor TRPV1 in patients with rectal hypersensitivity and faecal urgency. *Lancet* 361:385-391.
- Chang L, Munakata J, Mayer EA, Schmulson MJ, Johnson TD, Bernstein CN, Saba L, Naliboff B, Anton PA, Matin K (2000) Perceptual responses in patients with inflammatory and functional bowel disease. *Gut* 47:497-505.
- Chang L, Sundares S, Elliott J, Anton PA, Baldi P, Licudine A, Mayer M, Vuong T, Hirano M, Naliboff BD, Ameen VZ, Mayer EA (2009) Dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 21:149-159.
- Chao MV (2003) Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 4:299-309.
- Chaudhary NA, Truelove SC (1962) The irritable colon syndrome. A study of the clinical features, predisposing causes, and prognosis in 130 cases. *Q J Med* 31:307-322.
- Chemin J, Monteil A, Perez-Reyes E, Bourinet E, Nargeot J, Lory P (2002) Specific contribution of human T-type calcium channel isoforms ($\alpha 1G$), $\alpha 1H$ and $\alpha 1I$) to neuronal excitability. *J Physiol* 540:3-14.
- Chen CC, England S, Akopian AN, Wood JN (1998) A sensory neuron-specific, proton-gated ion channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:10240-10245.
- Chen CC, Zimmer A, Sun WH, Hall J, Brownstein MJ, Zimmer A (2002) A role for ASIC3 in the modulation of high-intensity pain stimuli. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:8992-8997.
- Chen CC, Lamping KG, Nuno DW, Barresi R, Prouty SJ, Lavoie JL, Cribbs LL, England SK, Sigmund CD, Weiss RM, Williamson RA, Hill JA, Campbell KP (2003) Abnormal coronary function in mice deficient in $\alpha 1H$ T-type Ca^{2+} channels. *Science* 302:1416-1418.
- Chial HJ, Camilleri M (2002) Gender differences in irritable bowel syndrome. *J Gend Specif Med* 5:37-45.
- Cho JH, Nicolae DL, Gold LH, Fields CT, LaBuda MC, Rohal PM, Pickles MR, Qin L, Fu Y, Mann JS, Kirschner BS, Jabs EW, Weber J, Hanauer SB, Bayless TM, Brant SR (1998) Identification of novel susceptibility loci for inflammatory bowel disease on chromosomes 1p, 3q, and 4q: evidence for epistasis between 1p and IBD1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:7502-7507.
- Choi S, Na HS, Kim J, Lee J, Lee S, Kim D, Park J, Chen CC, Campbell KP, Shin HS (2007) Attenuated pain responses in mice lacking $Ca_v3.2$ T-type channels. *Genes Brain Behav* 6:425-431.
- Christianson JA, Bielefeldt K, Altier C, Cenac N, Davis BM, Gebhart GF, High KW, Kollarik M, Randich A, Udem B, Vergnolle N (2008) Development, plasticity and modulation of visceral afferents. *Brain Res Rev*.
- Christofi FL (2008) Purinergic receptors and gastrointestinal secretomotor function. *Purinergic Signal* 4:213-236.
- Chrysos E, Athanasakis E, Tsiaoussis J, Zoras O, Nickolopoulos A, Vassilakis JS, Xynos E (2001) Rectoanal motility in Crohn's disease patients. *Dis Colon Rectum* 44:1509-1513.
- Chung EK, Zhang XJ, Xu HX, Sung JJ, Bian ZX (2007) Visceral hyperalgesia induced by neonatal maternal separation is associated with nerve growth factor-mediated

- central neuronal plasticity in rat spinal cord. *Neuroscience* 149:685-695.
- Clemens CH, Samsom M, Van Berge Henegouwen GP, Smout AJ (2003a) Abnormalities of left colonic motility in ambulant nonconstipated patients with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 48:74-82.
- Clemens CH, Samsom M, Roelofs JM, van Berge Henegouwen GP, Smout AJ (2003b) Association between pain episodes and high amplitude propagated pressure waves in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 98:1838-1843.
- Clouse RE (2003) Antidepressants for irritable bowel syndrome. *Gut* 52:598-599.
- Coates MD, Mahoney CR, Linden DR, Sampson JE, Chen J, Blaszyk H, Crowell MD, Sharkey KA, Gershon MD, Mawe GM, Moses PL (2004) Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 126:1657-1664.
- Cobrin GM, Abreu MT (2005) Defects in mucosal immunity leading to Crohn's disease. *Immunol Rev* 206:277-295.
- Codling C, O'Mahony L, Shanahan F, Quigley EM, Marchesi JR (2009) A Molecular Analysis of Fecal and Mucosal Bacterial Communities in Irritable Bowel Syndrome. *Dig Dis Sci*.
- Coffin B, Farmachidi JP, Rueegg P, Bastie A, Bouhassira D (2003) Tegaserod, a 5-HT₄ receptor partial agonist, decreases sensitivity to rectal distension in healthy subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 17:577-585.
- Coffin B, Bouhassira D, Sabate JM, Barbe L, Jian R (2004) Alteration of the spinal modulation of nociceptive processing in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 53:1465-1470.
- Colecchia A, Vestito A, La Rocca A, Pasqui F, Nikiforaki A, Festi D (2006) Effect of a symbiotic preparation on the clinical manifestations of irritable bowel syndrome, constipation-variant. Results of an open, uncontrolled multicenter study. *Minerva Gastroenterol Dietol* 52:349-358.
- Collins SM (1996) The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology* 111:1683-1699.
- Collins SM, Vallance B, Barbara G, Borgaonkar M (1999) Putative inflammatory and immunological mechanisms in functional bowel disorders. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 13:429-436.
- Compher CW, Frankel WL, Tazelaar J, Lawson JA, McKinney S, Segall S, Kinosian BP, Williams NN, Rombeau JL (1999) Wheat bran decreases aberrant crypt foci, preserves normal proliferation, and increases intraluminal butyrate levels in experimental colon cancer. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 23:269-277; discussion 277-268.
- Cook IJ, van Eeden A, Collins SM (1987) Patients with irritable bowel syndrome have greater pain tolerance than normal subjects. *Gastroenterology* 93:727-733.
- Cooke HJ (1986) Neurobiology of the intestinal mucosa. *Gastroenterology* 90:1057-1081.
- Cooke HJ (1989) Role of the "little brain" in the gut in water and electrolyte homeostasis. *Faseb J* 3:127-138.
- Coplan JD, Andrews MW, Rosenblum LA, Owens MJ, Friedman S, Gorman JM, Nemeroff CB (1996) Persistent elevations of cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing factor in adult nonhuman primates exposed to early-life stressors: implications for the pathophysiology of mood and anxiety disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:1619-1623.
- Coryell MW, Wunsch AM, Haenfler JM, Allen JE, Schnizler M, Ziemann AE, Cook MN, Dunning JP, Price MP, Rainier JD, Liu Z, Light AR, Langbehn DR, Wemmie JA (2009) Acid-sensing ion channel-1a in the amygdala, a novel therapeutic target in

- depression-related behavior. *J Neurosci* 29:5381-5388.
- Cosnes J, Seksik P, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Gendre JP (2006) Prior appendectomy and the phenotype and course of Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 12:1235-1242.
- Coste B, Crest M, Delmas P (2007) Pharmacological dissection and distribution of $\text{NaN}/\text{Nav}1.9$, T-type Ca^{2+} currents, and mechanically activated cation currents in different populations of DRG neurons. *J Gen Physiol* 129:57-77.
- Coste B, Osorio N, Padilla F, Crest M, Delmas P (2004) Gating and modulation of presumptive $\text{NaV}1.9$ channels in enteric and spinal sensory neurons. *Mol Cell Neurosci* 26:123-134.
- Coutinho SV, Su X, Sengupta JN, Gebhart GF (2000) Role of sensitized pelvic nerve afferents from the inflamed rat colon in the maintenance of visceral hyperalgesia. *Prog Brain Res* 129:375-387.
- Coutinho SV, Plotsky PM, Sablad M, Miller JC, Zhou H, Bayati AI, McRoberts JA, Mayer EA (2002) Neonatal maternal separation alters stress-induced responses to viscerosomatic nociceptive stimuli in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 282:G307-316.
- Creed F (1999) The relationship between psychosocial parameters and outcome in irritable bowel syndrome. *Am J Med* 107:74S-80S.
- Cremonini F, Camilleri M, McKinzie S, Carlson P, Camilleri CE, Burton D, Thomforde G, Urrutia R, Zinsmeister AR (2005) Effect of CCK-1 antagonist, dexloxiglumide, in female patients with irritable bowel syndrome: a pharmacodynamic and pharmacogenomic study. *Am J Gastroenterol* 100:652-663.
- Critchley HD, Wiens S, Rotshtein P, Ohman A, Dolan RJ (2004) Neural systems supporting interoceptive awareness. *Nat Neurosci* 7:189-195.
- Cucino C, Sonnenberg A (2001) The comorbid occurrence of other diagnoses in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 96:2107-2112.
- D'Argenio G, Mazzacca G (1999) Short-chain fatty acid in the human colon. Relation to inflammatory bowel diseases and colon cancer. *Adv Exp Med Biol* 472:149-158.
- D'Haens GR, Geboes K, Peeters M, Baert F, Penninckx F, Rutgeerts P (1998) Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology* 114:262-267.
- Danese S (2008) Mechanisms of action of infliximab in inflammatory bowel disease: an anti-inflammatory multitasker. *Dig Liver Dis* 40 Suppl 2:S225-228.
- Danese S, Semeraro S, Papa A, Roberto I, Scaldaferri F, Fedeli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A (2005) Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 11:7227-7236.
- Dapoigny M, Stockbrugger RW, Azpiroz F, Collins S, Coremans G, Muller-Lissner S, Oberndorff A, Pace F, Smout A, Vatn M, Whorwell P (2003) Role of alimentation in irritable bowel syndrome. *Digestion* 67:225-233.
- Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser AL, Barnich N, Bringer MA, Swidsinski A, Beaugerie L, Colombel JF (2004) High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 127:412-421.
- Datar P, Srivastava S, Coutinho E, Govil G (2004) Substance P: structure, function, and therapeutics. *Curr Top Med Chem* 4:75-103.
- Davis JB, Gray J, Gunthorpe MJ, Hatcher JP, Davey PT, Overend P, Harries MH, Latcham J, Clapham C, Atkinson K, Hughes SA, Rance K, Grau E, Harper AJ, Pugh PL, Rogers DC, Bingham S, Randall A, Sheardown SA (2000) Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. *Nature* 405:183-187.

- De Giorgio R, Barbara G, Stanghellini V, De Ponti F, Salvioli B, Tonini M, Velio P, Bassotti G, Corinaldesi R (2002) Clinical and morphofunctional features of idiopathic myenteric ganglionitis underlying severe intestinal motor dysfunction: a study of three cases. *Am J Gastroenterol* 97:2454-2459.
- De Giorgio R, Guerrini S, Barbara G, Stanghellini V, De Ponti F, Corinaldesi R, Moses PL, Sharkey KA, Mawe GM (2004) Inflammatory neuropathies of the enteric nervous system. *Gastroenterology* 126:1872-1883.
- de Groat WC (1987) Neuropeptides in pelvic afferent pathways. *Experientia* 43:801-813.
- de la Concha EG, Fernandez-Arquero M, Martinez A, Vigil P, Vidal F, Lopez-Nava G, Diaz-Rubio M, Garcia-Paredes J (1999) Amino acid polymorphism at residue 71 in HLA-DR beta chain plays a critical role in susceptibility to ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 44:2324-2329.
- Delafooy L, Raymond F, Doherty AM, Eschalier A, Diop L (2003) Role of nerve growth factor in the trinitrobenzene sulfonic acid-induced colonic hypersensitivity. *Pain* 105:489-497.
- Delafooy L, Gelot A, Ardid D, Eschalier A, Bertrand C, Doherty AM, Diop L (2006) Interactive involvement of brain derived neurotrophic factor, nerve growth factor, and calcitonin gene related peptide in colonic hypersensitivity in the rat. *Gut* 55:940-945.
- Delvaux M (2004) Alterations of sensori-motor functions of the digestive tract in the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 18:747-771.
- Delvaux M, Gay G (2005) Therapeutic strategy in patients with irritable bowel syndrome. *Acta Endoscopica* 35:649-661.
- Deval E, Salinas M, Baron A, Lingueglia E, Lazdunski M (2004) ASIC2b-dependent regulation of ASIC3, an essential acid-sensing ion channel subunit in sensory neurons via the partner protein PICK-1. *J Biol Chem* 279:19531-19539.
- Deval E, Noel J, Lay N, Alloui A, Diochot S, Friend V, Jodar M, Lazdunski M, Lingueglia E (2008) ASIC3, a sensor of acidic and primary inflammatory pain. *Embo J* 27:3047-3055.
- Dhaka A, Viswanath V, Patapoutian A (2006) Trp ion channels and temperature sensation. *Annu Rev Neurosci* 29:135-161.
- di Mola FF, Friess H, Zhu ZW, Koliopanos A, Bley T, Di Sebastiano P, Innocenti P, Zimmermann A, Buchler MW (2000) Nerve growth factor and Trk high affinity receptor (TrkA) gene expression in inflammatory bowel disease. *Gut* 46:670-679.
- Di Stefano M, Strocchi A, Malservisi S, Veneto G, Ferrieri A, Corazza GR (2000) Non-absorbable antibiotics for managing intestinal gas production and gas-related symptoms. *Aliment Pharmacol Ther* 14:1001-1008.
- Dickenson AH, Chapman V, Green GM (1997) The pharmacology of excitatory and inhibitory amino acid-mediated events in the transmission and modulation of pain in the spinal cord. *Gen Pharmacol* 28:633-638.
- Didierlaurent A, Simonet M, Sirard JC (2005) Innate and acquired plasticity of the intestinal immune system. *Cell Mol Life Sci* 62:1285-1287.
- Dinan TG, Quigley EM, Ahmed SM, Scully P, O'Brien S, O'Mahony L, O'Mahony S, Shanahan F, Keeling PW (2006) Hypothalamic-pituitary-gut axis dysregulation in irritable bowel syndrome: plasma cytokines as a potential biomarker? *Gastroenterology* 130:304-311.
- Diop L, Riviere PJ, Pascaud X, Dassaud M, Junien JL (1994) Role of vagal afferents in the antinociception produced by morphine and U-50,488H in the colonic pain reflex in rats. *Eur J Pharmacol* 257:181-187.

- Diop L, Raymond F, Fargeau H, Petoux F, Chovet M, Doherty AM (2002) Pregabalin (CI-1008) inhibits the trinitrobenzene sulfonic acid-induced chronic colonic allodynia in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 302:1013-1022.
- Dmitrieva N, McMahon SB (1996) Sensitisation of visceral afferents by nerve growth factor in the adult rat. *Pain* 66:87-97.
- Domotor A, Peidl Z, Vincze A, Hunyady B, Szolcsanyi J, Kereskay L, Szekeres G, Mozsik G (2005) Immunohistochemical distribution of vanilloid receptor, calcitonin-gene related peptide and substance P in gastrointestinal mucosa of patients with different gastrointestinal disorders. *Inflammopharmacology* 13:161-177.
- Dong WZ, Zou DW, Li ZS, Zou XP, Zhu AY, Xu GM, Yin N, Gong YF, Sun ZX, Man XH (2004) Study of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome. *Chin J Dig Dis* 5:103-109.
- Donnerer J, Schuligoi R, Stein C (1992) Increased content and transport of substance P and calcitonin gene-related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor in vivo. *Neuroscience* 49:693-698.
- Drewes AM, Petersen P, Rossel P, Gao C, Hansen JB, Arendt-Nielsen L (2001) Sensitivity and distensibility of the rectum and sigmoid colon in patients with irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 36:827-832.
- Drewes AM, Pedersen J, Reddy H, Rasmussen K, Funch-Jensen P, Arendt-Nielsen L, Gregersen H (2006) Central sensitization in patients with non-cardiac chest pain: a clinical experimental study. *Scand J Gastroenterol* 41:640-649.
- Drossman D, Corazziari E, Delvaux M, al. e (2006) Rome III: The Functional Gastrointestinal Disorders, 3rd Edition. McLean, VA:Degnon Associates Edition.
- Drossman DA (1999) Do psychosocial factors define symptom severity and patient status in irritable bowel syndrome? *Am J Med* 107:41S-50S.
- Drossman DA, Leserman J, Hu JB (1996a) Gastrointestinal diagnosis, abuse history, and effects on health status. *Gastroenterology* 111:1159-1161.
- Drossman DA, Camilleri M, Mayer EA, Whitehead WE (2002) AGA technical review on irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 123:2108-2131.
- Drossman DA, Li Z, Leserman J, Toomey TC, Hu YJ (1996b) Health status by gastrointestinal diagnosis and abuse history. *Gastroenterology* 110:999-1007.
- Duan B, Wu LJ, Yu YQ, Ding Y, Jing L, Xu L, Chen J, Xu TL (2007) Upregulation of acid-sensing ion channel ASIC1a in spinal dorsal horn neurons contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *J Neurosci* 27:11139-11148.
- Dubreuil AS, Boukhaddaoui H, Desmadryl G, Martinez-Salgado C, Moshourab R, Lewin GR, Carroll P, Valmier J, Scamps F (2004) Role of T-type calcium current in identified D-hair mechanoreceptor neurons studied in vitro. *J Neurosci* 24:8480-8484.
- Duerr RH (2003) Update on the genetics of inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 37:358-367.
- Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barmada MM, Rotter JI, Nicolae DL, Cho JH (2006) A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 314:1461-1463.
- Dunckley P, Wise RG, Aziz Q, Painter D, Brooks J, Tracey I, Chang L (2005) Cortical processing of visceral and somatic stimulation: differentiating pain intensity from unpleasantness. *Neuroscience* 133:533-542.
- Dunlop SP, Jenkins D, Spiller RC (2003) Distinctive clinical, psychological, and histological

- features of postinfective irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 98:1578-1583.
- Eijkelkamp N, Kavelaars A, Elsenbruch S, Schedlowski M, Holtmann G, Heijnen CJ (2007) Increased visceral sensitivity to capsaicin after DSS-induced colitis in mice: spinal cord c-Fos expression and behavior. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293:G749-757.
- Einarsdottir E, Koskinen LL, Dukes E, Kainu K, Suomela S, Lappalainen M, Ziberna F, Korponay-Szabo IR, Kurppa K, Kaukinen K, Adany R, Pocsai Z, Szeles G, Farkkila M, Turunen U, Halme L, Paavola-Sakki P, Not T, Vatta S, Ventura A, Lofberg R, Torkvist L, Bresso F, Halfvarson J, Maki M, Kontula K, Saarialho-Kere U, Kere J, D'Amato M, Saavalainen P (2009) IL23R in the Swedish, Finnish, Hungarian and Italian populations: association with IBD and psoriasis, and linkage to celiac disease. *BMC Med Genet* 10:8.
- Ekbom A, Montgomery SM (2004) Environmental risk factors (excluding tobacco and microorganisms): critical analysis of old and new hypotheses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 18:497-508.
- Ekbom A, Adami HO, Helmick CG, Jonzon A, Zack MM (1990) Perinatal risk factors for inflammatory bowel disease: a case-control study. *Am J Epidemiol* 132:1111-1119.
- Elenkov IJ, Chrousos GP (2006) Stress system--organization, physiology and immunoregulation. *Neuroimmunomodulation* 13:257-267.
- Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, Dimmitt RA, Lorenz RG, Weaver CT (2005) Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev* 206:260-276.
- Enck P, Zimmermann K, Menke G, Muller-Lissner S, Martens U, Klosterhalfen S (2008) A mixture of *Escherichia coli* (DSM 17252) and *Enterococcus faecalis* (DSM 16440) for treatment of the irritable bowel syndrome--a randomized controlled trial with primary care physicians. *Neurogastroenterol Motil* 20:1103-1109.
- Evans PR, Bennett EJ, Bak YT, Tennant CC, Kellow JE (1996) Jejunal sensorimotor dysfunction in irritable bowel syndrome: clinical and psychosocial features. *Gastroenterology* 110:393-404.
- Fahmy OA, Abdel-Fattah SA, Fahmy IA, Mokhtar I, el-Maragy MM (1991) Estimation of serum and tissue immunoglobulins level in some colonic disorders. *J Egypt Soc Parasitol* 21:503-512.
- Farrell RJ, LaMont JT (2002) Microbial factors in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 31:41-62.
- Feher E, Kovacs A, Gallatz K, Feher J (1997) Direct morphological evidence of neuroimmunomodulation in colonic mucosa of patients with Crohn's disease. *Neuroimmunomodulation* 4:250-257.
- Feil R, Kleppisch T (2008) NO/cGMP-dependent modulation of synaptic transmission. *Handb Exp Pharmacol*:529-560.
- Feller M, Huwiler K, Stephan R, Altpeter E, Shang A, Furrer H, Pfyffer GE, Jemmi T, Baumgartner A, Egger M (2007) *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 7:607-613.
- Fellermann K, Stange DE, Schaeffeler E, Schmalzl H, Wehkamp J, Bevins CL, Reinisch W, Teml A, Schwab M, Lichter P, Radlwimmer B, Stange EF (2006) A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number predisposes to Crohn disease of the colon. *Am J Hum Genet* 79:439-448.
- Fields H (2004) State-dependent opioid control of pain. *Nat Rev Neurosci* 5:565-575.

- Fields HL (2000) Pain modulation: expectation, opioid analgesia and virtual pain. *Prog Brain Res* 122:245-253.
- Fillingim RB, Maixner W, Kincaid S, Silva S (1998) Sex differences in temporal summation but not sensory-discriminative processing of thermal pain. *Pain* 75:121-127.
- Fishbain D (2000) Evidence-based data on pain relief with antidepressants. *Ann Med* 32:305-316.
- Fisher SA, Tremelling M, Anderson CA, Gwilliam R, Bumpstead S, Prescott NJ, Nimmo ER, Massey D, Berzuini C, Johnson C, Barrett JC, Cummings FR, Drummond H, Lees CW, Onnie CM, Hanson CE, Blaszczyk K, Inouye M, Ewels P, Ravindrarajah R, Keniry A, Hunt S, Carter M, Watkins N, Ouwehand W, Lewis CM, Cardon L, Lobo A, Forbes A, Sanderson J, Jewell DP, Mansfield JC, Deloukas P, Mathew CG, Parkes M, Satsangi J (2008) Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. *Nat Genet* 40:710-712.
- Fjell J, Cummins TR, Fried K, Black JA, Waxman SG (1999a) In vivo NGF deprivation reduces SNS expression and TTX-R sodium currents in IB4-negative DRG neurons. *J Neurophysiol* 81:803-810.
- Fjell J, Cummins TR, Dib-Hajj SD, Fried K, Black JA, Waxman SG (1999b) Differential role of GDNF and NGF in the maintenance of two TTX-resistant sodium channels in adult DRG neurons. *Brain Res Mol Brain Res* 67:267-282.
- Fleeton M, Contractor N, Leon F, He J, Wetzel D, Dermody T, Iwasaki A, Kelsall B (2004) Involvement of dendritic cell subsets in the induction of oral tolerance and immunity. *Ann N Y Acad Sci* 1029:60-65.
- Floch MH (2003) Probiotics, Irritable Bowel Syndrome, and Inflammatory Bowel Disease. *Curr Treat Options Gastroenterol* 6:283-288.
- Floch MH (2005) Use of diet and probiotic therapy in the irritable bowel syndrome: analysis of the literature. *J Clin Gastroenterol* 39:S243-246.
- Folino M, McIntyre A, Young GP (1995) Dietary fibers differ in their effects on large bowel epithelial proliferation and fecal fermentation-dependent events in rats. *J Nutr* 125:1521-1528.
- Francis CY, Whorwell PJ (1994) Bran and irritable bowel syndrome: time for reappraisal. *Lancet* 344:39-40.
- Friese N, Diop L, Chevalier E, Angel F, Riviere PJ, Dahl SG (1997) Involvement of prostaglandins and CGRP-dependent sensory afferents in peritoneal irritation-induced visceral pain. *Regul Pept* 70:1-7.
- Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y (2003) Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 52:65-70.
- Fukudo S, Kanazawa M, Kano M, Sagami Y, Endo Y, Utsumi A, Nomura T, Hongo M (2002) Exaggerated motility of the descending colon with repetitive distention of the sigmoid colon in patients with irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol* 37 Suppl 14:145-150.
- Funderburg N, Lederman MM, Feng Z, Drage MG, Jadowsky J, Harding CV, Weinberg A, Sieg SF (2007) Human α -defensin-3 activates professional antigen-presenting cells via Toll-like receptors 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:18631-18635.
- Furlan R, Ardizzone S, Palazzolo L, Rimoldi A, Perego F, Barbic F, Bevilacqua M, Vago L, Bianchi Porro G, Malliani A (2006) Sympathetic overactivity in active ulcerative colitis: effects of clonidine. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290:R224-232.
- Furness J (2006) Constituent neurons of the enteric nervous system. Malden, USA: Blackwell.
- Fusunyan RD, Quinn JJ, Ohno Y, MacDermott RP, Sanderson IR (1998) Butyrate

- enhances interleukin (IL)-8 secretion by intestinal epithelial cells in response to IL-1 β and lipopolysaccharide. *Pediatr Res* 43:84-90.
- Galve-Roperh I, Malpartida JM, Haro A, Brachet P, Diaz-Laviada I (1997) Regulation of nerve growth factor secretion and mRNA expression by bacterial lipopolysaccharide in primary cultures of rat astrocytes. *J Neurosci Res* 49:569-575.
- Galvez J, Rodriguez-Cabezas ME, Zarzuelo A (2005) Effects of dietary fiber on inflammatory bowel disease. *Mol Nutr Food Res* 49:601-608.
- Gamboa-Esteves FO, Tavares I, Almeida A, Batten TF, McWilliam PN, Lima D (2001) Projection sites of superficial and deep spinal dorsal horn cells in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res* 921:195-205.
- Garcia-Anoveros J, Samad TA, Zuvela-Jelaska L, Woolf CJ, Corey DP (2001) Transport and localization of the DEG/ENaC ion channel BNaC1 α to peripheral mechanosensory terminals of dorsal root ganglia neurons. *J Neurosci* 21:2678-2686.
- Garcia Rodriguez LA, Ruigomez A, Panes J (2006) Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 130:1588-1594.
- Garraway SM, Petruska JC, Mendell LM (2003) BDNF sensitizes the response of lamina II neurons to high threshold primary afferent inputs. *Eur J Neurosci* 18:2467-2476.
- Garrison DW, Chandler MJ, Foreman RD (1992) Viscerosomatic convergence onto feline spinal neurons from esophagus, heart and somatic fields: effects of inflammation. *Pain* 49:373-382.
- Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, Jewell DP, Rachmilewitz D, Sachar DB, Sandborn WJ, Sutherland LR (2000) A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 6:8-15.
- Gaudreau GA, Plourde V (2003) Role of tachykinin NK1, NK2 and NK3 receptors in the modulation of visceral hypersensitivity in the rat. *Neurosci Lett* 351:59-62.
- Gaya DR, Lyon TD, Duncan A, Neilly JB, Han S, Howell J, Liddell C, Stanley AJ, Morris AJ, Mackenzie JF (2005) Faecal calprotectin in the assessment of Crohn's disease activity. *Qjm* 98:435-441.
- Gaynes BN, Drossman DA (1999) The role of psychosocial factors in irritable bowel syndrome. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 13:437-452.
- Gebhart GF (2000) Pathobiology of visceral pain: molecular mechanisms and therapeutic implications IV. Visceral afferent contributions to the pathobiology of visceral pain. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 278:G834-838.
- Gentili M, Enel D, Szymkiewicz O, Mansour F, Bonnet F (2001) Postoperative analgesia by intraarticular clonidine and neostigmine in patients undergoing knee arthroscopy. *Reg Anesth Pain Med* 26:342-347.
- Geppetti P, Trevisani M (2004) Activation and sensitisation of the vanilloid receptor: role in gastrointestinal inflammation and function. *Br J Pharmacol* 141:1313-1320.
- Gerards C, Leodolter A, Glasbrenner B, Malfertheiner P (2001) H. pylori infection and visceral hypersensitivity in patients with irritable bowel syndrome. *Dig Dis* 19:170-173.
- Gershon MD, Tack J (2007) The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology* 132:397-414.
- Ghosh S, Goldin E, Gordon FH, Malchow HA, Rask-Madsen J, Rutgeerts P, Vyhnaek P, Zadorova Z, Palmer T, Donoghue S (2003) Natalizumab for active Crohn's disease. *N Engl J Med* 348:24-32.
- Giamberardino MA, Valente R, de Bigontina P, Vecchiet L (1995) Artificial ureteral calculosis in rats: behavioural characterization of visceral pain episodes and their

- relationship with referred lumbar muscle hyperalgesia. *Pain* 61:459-469.
- Giamberardino MA, Affaitati G, Valente R, Iezzi S, Vecchiet L (1997) Changes in visceral pain reactivity as a function of estrous cycle in female rats with artificial ureteral calculosis. *Brain Res* 774:234-238.
- Giesler GJ (1995) Evidence for direct nociceptive projections from the spinal cord to the hypothalamus and telencephalon. *Neuroscience* 7:253-261.
- Gilberts EC, Greenstein AJ, Katsel P, Harpaz N, Greenstein RJ (1994) Molecular evidence for two forms of Crohn disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:12721-12724.
- Giniatullin R, Nistri A, Fabbretti E (2008) Molecular mechanisms of sensitization of pain-transducing P2X3 receptors by the migraine mediators CGRP and NGF. *Mol Neurobiol* 37:83-90.
- Glasser AL, Boudeau J, Barnich N, Perruchot MH, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A (2001) Adherent invasive *Escherichia coli* strains from patients with Crohn's disease survive and replicate within macrophages without inducing host cell death. *Infect Immun* 69:5529-5537.
- Glazebrook PA, Ramirez AN, Schild JH, Shieh CC, Doan T, Wible BA, Kunze DL (2002) Potassium channels Kv1.1, Kv1.2 and Kv1.6 influence excitability of rat visceral sensory neurons. *J Physiol* 541:467-482.
- Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, Hutchinson IV (2003) Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component? *Gut* 52:91-93.
- Gorski A, Wazna E, Dabrowska BW, Dabrowska K, Switala-Jelen K, Miedzybrodzki R (2006) Bacteriophage translocation. *FEMS Immunol Med Microbiol* 46:313-319.
- Greenwood-Van Meerveld B, Gibson MS, Johnson AC, Venkova K, Sutkowski-Markmann D (2003) NK1 receptor-mediated mechanisms regulate colonic hypersensitivity in the guinea pig. *Pharmacol Biochem Behav* 74:1005-1013.
- Grundy D, Scratcherd T (1989) Sensory afferents from the gastrointestinal tract. Bethesda, MD: American Physiology Society.
- Guarner F, Malagelada JR (2003) Gut flora in health and disease. *Lancet* 361:512-519.
- Gue M, Del Rio-Lacheze C, Eutamene H, Theodorou V, Fioramonti J, Bueno L (1997) Stress-induced visceral hypersensitivity to rectal distension in rats: role of CRF and mast cells. *Neurogastroenterol Motil* 9:271-279.
- Guerios SD, Wang ZY, Bjorling DE (2006) Nerve growth factor mediates peripheral mechanical hypersensitivity that accompanies experimental cystitis in mice. *Neurosci Lett* 392:193-197.
- Guirimand F, Le Bars D (1996) [Physiology of nociception]. *Ann Fr Anesth Reanim* 15:1048-1079.
- Guslandi M, Giollo P, Testoni PA (2003) A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15:697-698.
- Guthrie E, Creed F, Dawson D, Tomenson B (1991) A controlled trial of psychological treatment for the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 100:450-457.
- Hains BC, Willis WD, Hulsebosch CE (2003) Temporal plasticity of dorsal horn somatosensory neurons after acute and chronic spinal cord hemisection in rat. *Brain Res* 970:238-241.
- Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer RJ (2008) Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther* 27:104-119.
- Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, Albrecht M, Mayr G, De La Vega FM, Briggs J, Gunther S, Prescott NJ, Onnie CM, Hasler R, Sipos B, Folsch UR, Lengauer T, Platzer M, Mathew CG, Krawczak M, Schreiber S (2007) A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility

- variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet* 39:207-211.
- Hanauer SB, Present DH (2003) The state of the art in the management of inflammatory bowel disease. *Rev Gastroenterol Disord* 3:81-92.
- Hart AL, Al-Hassi HO, Rigby RJ, Bell SJ, Emmanuel AV, Knight SC, Kamm MA, Stagg AJ (2005) Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 129:50-65.
- Hasler WL, Soudah HC, Owyang C (1994) Somatostatin analog inhibits afferent response to rectal distention in diarrhea-predominant irritable bowel patients. *J Pharmacol Exp Ther* 268:1206-1211.
- Hata K, Andoh A, Sato H, Araki Y, Tanaka M, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Bamba T (2001) Sequential changes in luminal microflora and mucosal cytokine expression during developing of colitis in HLA-B27/beta2-microglobulin transgenic rats. *Scand J Gastroenterol* 36:1185-1192.
- Heitkemper M, Jarrett M, Cain K, Shaver J, Bond E, Woods NF, Walker E (1996) Increased urine catecholamines and cortisol in women with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 91:906-913.
- Heitkemper M, Jarrett M, Cain KC, Burr R, Levy RL, Feld A, Hertig V (2001) Autonomic nervous system function in women with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 46:1276-1284.
- Heitkemper MM, Jarrett M (1992) Pattern of gastrointestinal and somatic symptoms across the menstrual cycle. *Gastroenterology* 102:505-513.
- Heitkemper MM, Chang L (2009) Do fluctuations in ovarian hormones affect gastrointestinal symptoms in women with irritable bowel syndrome? *Gend Med* 6 Suppl 2:152-167.
- Heitkemper MM, Jarrett M, Caudell KA, Bond E (1993) Women with gastrointestinal symptoms: implications for nursing research and practice. *Gastroenterol Nurs* 15:226-232.
- Heitkemper MM, Cain KC, Jarrett ME, Burr RL, Crowell MD, Woods NF (2004) Relationship of bloating to other GI and menstrual symptoms in women with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 49:88-95.
- Hellwig N, Plant TD, Janson W, Schafer M, Schultz G, Schaefer M (2004) TRPV1 acts as proton channel to induce acidification in nociceptive neurons. *J Biol Chem* 279:34553-34561.
- Heppenstall PA, Lewin GR (2000) Neurotrophins, nociceptors and pain. *Curr Opin Anaesthesiol* 13:573-576.
- Heppenstall PA, Lewin GR (2001) BDNF but not NT-4 is required for normal flexion reflex plasticity and function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:8107-8112.
- Hersbach P, Henrich G, von Rad M (1999) Psychological factors in functional gastrointestinal disorders: characteristics of the disorder or of the illness behavior? *Psychosom Med* 61:148-153.
- Hesselager M, Timmermann DB, Ahring PK (2004) pH Dependency and desensitization kinetics of heterologously expressed combinations of acid-sensing ion channel subunits. *J Biol Chem* 279:11006-11015.
- Hicks GA, Coldwell JR, Schindler M, Ward PA, Jenkins D, Lynn PA, Humphrey PP, Blackshaw LA (2002) Excitation of rat colonic afferent fibres by 5-HT(3) receptors. *J Physiol* 544:861-869.
- Hill KA, Wang KL, Stryker SJ, Gupta R, Weinrach DM, Rao MS (2004) Comparative analysis of cell adhesion molecules, cell cycle regulatory proteins, mismatch repair genes, cyclooxygenase-2, and DPC4 in carcinomas arising in inflammatory bowel disease and sporadic colon cancer. *Oncol Rep* 11:951-956.

- Hinds JP, Stoney B, Wald A (1989) Does gender or the menstrual cycle affect colonic transit? *Am J Gastroenterol* 84:123-126.
- Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, Nadeau WJ, McCormick BA, Podolsky DK (2003) CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 124:993-1000.
- Hobson AR, Aziz Q (2007) Modulation of visceral nociceptive pathways. *Curr Opin Pharmacol* 7:593-597.
- Hofbauer RK, Rainville P, Duncan GH, Bushnell MC (2001) Cortical representation of the sensory dimension of pain. *J Neurophysiol* 86:402-411.
- Holdcroft A, Sapsed-Byrne S, Ma D, Hammal D, Forsling ML (2000) Sex and oestrous cycle differences in visceromotor responses and vasopressin release in response to colonic distension in male and female rats anaesthetized with halothane. *Br J Anaesth* 85:907-910.
- Holstein A, Burmeister J, Plaschke A, Rosemeier D, Widjaja A, Egberts EH (2006) Autoantibody profiles in microscopic colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 21:1016-1020.
- Holzer P (2001) Gastrointestinal afferents as targets of novel drugs for the treatment of functional bowel disorders and visceral pain. *Eur J Pharmacol* 429:177-193.
- Holzer P (2007) Taste receptors in the gastrointestinal tract. V. Acid sensing in the gastrointestinal tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292:G699-705.
- Holzer P (2009) Acid-sensitive ion channels and receptors. *Handb Exp Pharmacol*:283-332.
- Holzer P, Holzer-Petsche U (1997) Tachykinins in the gut. Part I. Expression, release and motor function. *Pharmacol Ther* 73:173-217.
- Hou S, Duale H, Rabchevsky AG (2009) Intraspinal sprouting of unmyelinated pelvic afferents after complete spinal cord injury is correlated with autonomic dysreflexia induced by visceral pain. *Neuroscience* 159:369-379.
- Huang EJ, Reichardt LF (2001) Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 24:677-736.
- Hughes PA, Brierley SM, Young RL, Blackshaw LA (2007) Localization and comparative analysis of acid-sensing ion channel (ASIC1, 2, and 3) mRNA expression in mouse colonic sensory neurons within thoracolumbar dorsal root ganglia. *J Comp Neurol* 500:863-875.
- Hughes PA, Brierley SM, Martin CM, Liebrechts T, Persson J, Adam B, Holtmann G, Blackshaw LA (2009) TRPV1-expressing sensory fibres and IBS: links with immune function. *Gut* 58:465-466.
- Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Caillat-Zucman S, Beaugier L, Dupas JL, Van Gossum A, Bonait-Pellie C, Cortot A, Thomas G (1994) Linkage analyses of chromosome 6 loci, including HLA, in familial aggregations of Crohn disease. G.E.T.A.I.D. *Am J Med Genet* 52:207-213.
- Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugier L, Naom I, Dupas JL, Van Gossum A, Orholm M, Bonaiti-Pellie C, Weissenbach J, Mathew CG, Lennard-Jones JE, Cortot A, Colombel JF, Thomas G (1996) Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 379:821-823.
- Huguenard JR (1996) Low-threshold calcium currents in central nervous system neurons. *Annu Rev Physiol* 58:329-348.
- Hulisz D (2004) The burden of illness of irritable bowel syndrome: current challenges and hope for the future. *J Manag Care Pharm* 10:299-309.
- Hunt SP, Mantyh PW (2001) The molecular dynamics of pain control. *Nat Rev Neurosci* 2:83-91.
- Ikeuchi M, Kolker SJ, Burnes LA, Walder RY, Sluka KA (2008) Role of ASIC3 in the

- primary and secondary hyperalgesia produced by joint inflammation in mice. *Pain*.
- Improta G, Broccardo M (2006) Tachykinins: role in human gastrointestinal tract physiology and pathology. *Curr Drug Targets* 7:1021-1029.
- Improta G, Carpino F, Petrozza V, Guglietta A, Tabacco A, Broccardo M (2003) Central effects of selective NK1 and NK3 tachykinin receptor agonists on two models of experimentally-induced colitis in rats. *Peptides* 24:903-911.
- Indo Y (2009) Nerve growth factor, interoception, and sympathetic neuron: lesson from congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Auton Neurosci* 147:3-8.
- Inohara N, Koseki T, del Peso L, Hu Y, Yee C, Chen S, Carrio R, Merino J, Liu D, Ni J, Nunez G (1999) Nod1, an Apaf-1-like activator of caspase-9 and nuclear factor-kappaB. *J Biol Chem* 274:14560-14567.
- Iovino P, Azpiroz F, Domingo E, Malagelada JR (1995) The sympathetic nervous system modulates perception and reflex responses to gut distention in humans. *Gastroenterology* 108:680-686.
- Issa M, Ananthakrishnan AN, Binion DG (2008) *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 14:1432-1442.
- Ivanov S, Linden A (2009) Interleukin-17 as a drug target in human disease. *Trends Pharmacol Sci* 30:95-103.
- Iwasaki A, Medzhitov R (2004) Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 5:987-995.
- Jackson JL, O'Malley PG, Tomkins G, Balden E, Santoro J, Kroenke K (2000) Treatment of functional gastrointestinal disorders with antidepressant medications: a meta-analysis. *Am J Med* 108:65-72.
- Jackson NA, Houghton LA, Whorwell PJ, Currer B (1994) Does the menstrual cycle affect anorectal physiology? *Dig Dis Sci* 39:2607-2611.
- Jailwala J, Imperiale TF, Kroenke K (2000) Pharmacologic treatment of the irritable bowel syndrome: a systematic review of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 133:136-147.
- Jantchou P, Monnet E, Carbonnel F (2006) [Environmental risk factors in Crohn's disease and ulcerative colitis (excluding tobacco and appendectomy)]. *Gastroenterol Clin Biol* 30:859-867.
- Jarrett M, Heitkemper MM, Bond EF, Georges J (1994) Comparison of diet composition in women with and without functional bowel disorder. *Gastroenterol Nurs* 16:253-258.
- Ji RR, Woolf CJ (2001) Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain. *Neurobiol Dis* 8:1-10.
- Ji RR, Samad TA, Jin SX, Schmoll R, Woolf CJ (2002) p38 MAPK activation by NGF in primary sensory neurons after inflammation increases TRPV1 levels and maintains heat hyperalgesia. *Neuron* 36:57-68.
- Johansen JP, Fields HL, Manning BH (2001) The affective component of pain in rodents: direct evidence for a contribution of the anterior cingulate cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:8077-8082.
- Johanson JF (2004) Options for patients with irritable bowel syndrome: contrasting traditional and novel serotonergic therapies. *Neurogastroenterol Motil* 16:701-711.
- Johansson M, Norrgard O, Forsgren S (2007) Study of expression patterns and levels of neurotrophins and neurotrophin receptors in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 13:398-409.
- Johansson M, Jonsson M, Norrgard O, Forsgren S (2008) New aspects concerning ulcerative colitis and colonic carcinoma: analysis of levels of neuropeptides, neurotrophins, and TNFalpha/TNF receptor in plasma and mucosa in parallel with

- histological evaluation of the intestine. *Inflamm Bowel Dis* 14:1331-1340.
- Jones MP, Dilley JB, Drossman D, Crowell MD (2006) Brain-gut connections in functional GI disorders: anatomic and physiologic relationships. *Neurogastroenterol Motil* 18:91-103.
- Jones RC, 3rd, Xu L, Gebhart GF (2005) The mechanosensitivity of mouse colon afferent fibers and their sensitization by inflammatory mediators require transient receptor potential vanilloid 1 and acid-sensing ion channel 3. *J Neurosci* 25:10981-10989.
- Jones RC, 3rd, Otsuka E, Wagstrom E, Jensen CS, Price MP, Gebhart GF (2007) Short-term sensitization of colon mechanoreceptors is associated with long-term hypersensitivity to colon distention in the mouse. *Gastroenterology* 133:184-194.
- Julius D, Basbaum AI (2001) Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413:203-210.
- Kafitz KW, Rose CR, Thoenen H, Konnerth A (1999) Neurotrophin-evoked rapid excitation through TrkB receptors. *Nature* 401:918-921.
- Kalliomaki MA (2005) Food allergy and irritable bowel syndrome. *Curr Opin Gastroenterol* 21:708-711.
- Kamm MA (2002) Pharmacological treatment of irritable bowel syndrome--from concept to sales. *Eur J Surg Suppl*:10-15.
- Kanzler H, Barrat FJ, Hessel EM, Coffman RL (2007) Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor agonists and antagonists. *Nat Med* 13:552-559.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2:123-140.
- Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Makivuokko H, Rinttilä T, Paulin L, Corander J, Malinen E, Apajalahti J, Palva A (2007) The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology* 133:24-33.
- Katsuta T, Lim C, Shimoda K, Shibuta K, Mitra P, Banner BF, Mori M, Barnard GF (2000) Interleukin-8 and SDF1-alpha mRNA expression in colonic biopsies from patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 95:3157-3164.
- Kawai T, Akira S (2006) TLR signaling. *Cell Death Differ* 13:816-825.
- Kawai T, Akira S (2009) The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol* 21:317-337.
- Kawasaki Y, Kohno T, Zhuang ZY, Brenner GJ, Wang H, Van Der Meer C, Befort K, Woolf CJ, Ji RR (2004) Ionotropic and metabotropic receptors, protein kinase A, protein kinase C, and Src contribute to C-fiber-induced ERK activation and cAMP response element-binding protein phosphorylation in dorsal horn neurons, leading to central sensitization. *J Neurosci* 24:8310-8321.
- Kellow JE, Gill RC, Wingate DL (1990) Prolonged ambulant recordings of small bowel motility demonstrate abnormalities in the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 98:1208-1218.
- Kellow JE, Eckersley CM, Jones MP (1991) Enhanced perception of physiological intestinal motility in the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 101:1621-1627.
- Kellow JE, Phillips SF, Miller LJ, Zinsmeister AR (1988) Dysmotility of the small intestine in irritable bowel syndrome. *Gut* 29:1236-1243.
- Kellow JE, Azpiroz F, Delvaux M, Gebhart GF, Mertz HR, Quigley EM, Smout AJ (2006) Applied principles of neurogastroenterology: physiology/motility sensation. *Gastroenterology* 130:1412-1420.
- Kerr BJ, Bradbury EJ, Bennett DL, Trivedi PM, Dassan P, French J, Shelton DB, McMahon SB, Thompson SW (1999) Brain-derived neurotrophic factor modulates nociceptive sensory inputs and NMDA-evoked responses in the rat spinal cord. *J Neurosci* 19:5138-5148.

- Keshavarzian A, Banan A, Farhadi A, Komanduri S, Mutlu E, Zhang Y, Fields JZ (2003) Increases in free radicals and cytoskeletal protein oxidation and nitration in the colon of patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 52:720-728.
- Kim HJ, Camilleri M, McKinzie S, Lempke MB, Burton DD, Thomforde GM, Zinsmeister AR (2003) A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 17:895-904.
- Kim HJ, Vazquez Roque MI, Camilleri M, Stephens D, Burton DD, Baxter K, Thomforde G, Zinsmeister AR (2005) A randomized controlled trial of a probiotic combination VSL# 3 and placebo in irritable bowel syndrome with bloating. *Neurogastroenterol Motil* 17:687-696.
- King CD, Wong F, Currie T, Mauderli AP, Fillingim RB, Riley JL, 3rd (2009) Deficiency in endogenous modulation of prolonged heat pain in patients with Irritable Bowel Syndrome and Temporomandibular Disorder. *Pain* 143:172-178.
- King TS, Elia M, Hunter JO (1998) Abnormal colonic fermentation in irritable bowel syndrome. *Lancet* 352:1187-1189.
- Kirifides ML, Simpson KL, Lin RC, Waterhouse BD (2001) Topographic organization and neurochemical identity of dorsal raphe neurons that project to the trigeminal somatosensory pathway in the rat. *J Comp Neurol* 435:325-340.
- Kirkegaard T, Hansen A, Bruun E, Brynskov J (2004) Expression and localisation of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors in fistulae of patients with Crohn's disease. *Gut* 53:701-709.
- Kirsch R, Riddell RH (2006) Histopathological alterations in irritable bowel syndrome. *Mod Pathol* 19:1638-1645.
- Kleessen B, Kroesen AJ, Buhr HJ, Blaut M (2002) Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. *Scand J Gastroenterol* 37:1034-1041.
- Klement E, Cohen RV, Boxman J, Joseph A, Reif S (2004) Breastfeeding and risk of inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 80:1342-1352.
- Klionsky DJ (2007) Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:931-937.
- Klooker TK, Kuiken SD, Lei A, Boeckxstaens GE (2007) Effect of long-term treatment with octreotide on rectal sensitivity in patients with non-constipated irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 26:605-615.
- Knowles CH, Aziz Q (2009) Basic and clinical aspects of gastrointestinal pain. *Pain* 141:191-209.
- Koch TR, Carney JA, Go VL (1987) Distribution and quantitation of gut neuropeptides in normal intestine and inflammatory bowel diseases. *Dig Dis Sci* 32:369-376.
- Kolhekar R, Gebhart GF (1996) Modulation of spinal visceral nociceptive transmission by NMDA receptor activation in the rat. *J Neurophysiol* 75:2344-2353.
- Korzenik JR, Podolsky DK (2006) Evolving knowledge and therapy of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Drug Discov* 5:197-209.
- Koutroubakis IE, Vlachonikolis IG, Kouroumalis EA (2002) Role of appendicitis and appendectomy in the pathogenesis of ulcerative colitis: a critical review. *Inflamm Bowel Dis* 8:277-286.
- Koutroubakis IE, Tsiolakidou G, Karmiris K, Kouroumalis EA (2006) Role of angiogenesis in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 12:515-523.
- Kovacs KJ (1998) c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map. *Neurochem Int* 33:287-297.

- Kovacs KJ (2008) Measurement of immediate-early gene activation- c-fos and beyond. *J Neuroendocrinol* 20:665-672.
- Kovacs Z, Kovacs F (2007) Depressive and anxiety symptoms, dysfunctional attitudes and social aspects in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. *Int J Psychiatry Med* 37:245-255.
- Kraneveld AD, Rijnierse A, Nijkamp FP, Garssen J (2008) Neuro-immune interactions in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: future therapeutic targets. *Eur J Pharmacol* 585:361-374.
- Kuroda R, Kawao N, Yoshimura H, Umeda W, Takemura M, Shigenaga Y, Kawabata A (2001) Secondary somatosensory cortex stimulation facilitates the antinociceptive effect of the NO synthase inhibitor through suppression of spinal nociceptive neurons in the rat. *Brain Res* 903:110-116.
- Kwan CL, Diamant NE, Mikula K, Davis KD (2005) Characteristics of rectal perception are altered in irritable bowel syndrome. *Pain* 113:160-171.
- Lacy BE (2003) Irritable bowel syndrome: a primer on management. *Rev Gastroenterol Disord* 3 Suppl 3:S32-42.
- Ladd CO, Huot RL, Thiruvikraman KV, Nemeroff CB, Plotsky PM (2004) Long-term adaptations in glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mRNA and negative feedback on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis following neonatal maternal separation. *Biol Psychiatry* 55:367-375.
- Ladd CO, Huot RL, Thiruvikraman KV, Nemeroff CB, Meaney MJ, Plotsky PM (2000) Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. *Prog Brain Res* 122:81-103.
- Laffineur G, Lescut D, Vincent P, Quandalle P, Wurtz A, Colombel JF (1992) [Bacterial translocation in Crohn disease]. *Gastroenterol Clin Biol* 16:777-781.
- Laharie D, Debeugny S, Peeters M, Van Gossum A, Gower-Rousseau C, Belaiche J, Fiasse R, Dupas JL, Lerebours E, Piotte S, Cortot A, Vermeire S, Grandbastien B, Colombel JF (2001) Inflammatory bowel disease in spouses and their offspring. *Gastroenterology* 120:816-819.
- Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L (2007) Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? *World J Gastroenterol* 13:6134-6139.
- Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davies S, Ogunbiyi O, Nunez G, Keshav S (2003) Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology* 125:47-57.
- Lamb K, Gebhart GF, Bielefeldt K (2004) Increased nerve growth factor expression triggers bladder overactivity. *J Pain* 5:150-156.
- Langhorst J, Junge A, Rueffer A, Wehkamp J, Foell D, Michalsen A, Musial F, Dobos GJ (2009) Elevated human beta-defensin-2 levels indicate an activation of the innate immune system in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 104:404-410.
- Larauche M, Bradesi S, Million M, McLean P, Tache Y, Mayer EA, McRoberts JA (2008) Corticotropin-releasing factor type 1 receptors mediate the visceral hyperalgesia induced by repeated psychological stress in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 294:G1033-1040.
- Lawrance IC, Fiocchi C, Chakravarti S (2001) Ulcerative colitis and Crohn's disease: distinctive gene expression profiles and novel susceptibility candidate genes. *Hum Mol Genet* 10:445-456.
- Lawson SN, Waddell PJ (1991) Soma neurofilament immunoreactivity is related to cell size and fibre conduction velocity in rat primary sensory neurons. *J Physiol* 435:41-63.

- Le Bars D, Adam F (2002) [Nociceptors and mediators in acute inflammatory pain]. *Ann Fr Anesth Reanim* 21:315-335.
- Lecci A, Maggi CA (2003) Peripheral tachykinin receptors as potential therapeutic targets in visceral diseases. *Expert Opin Ther Targets* 7:343-362.
- LeDoux J (2003) The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol* 23:727-738.
- Lee CM, Kumar RK, Lubowski DZ, Burcher E (2002a) Neuropeptides and nerve growth in inflammatory bowel diseases: a quantitative immunohistochemical study. *Dig Dis Sci* 47:495-502.
- Lee YJ, Zachrisson O, Tonge DA, McNaughton PA (2002b) Upregulation of bradykinin B2 receptor expression by neurotrophic factors and nerve injury in mouse sensory neurons. *Mol Cell Neurosci* 19:186-200.
- Leffler A, Cummins TR, Dib-Hajj SD, Hormuzdiar WN, Black JA, Waxman SG (2002) GDNF and NGF reverse changes in repriming of TTX-sensitive Na(+) currents following axotomy of dorsal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 88:650-658.
- Lembo A (2006) Peripheral opioids for functional GI disease: a reappraisal. *Dig Dis* 24:91-98.
- Lembo AJ, Neri B, Tolley J, Barken D, Carroll S, Pan H (2009) Use of serum biomarkers in a diagnostic test for irritable bowel syndrome. In: *Aliment Pharmacol Ther*, pp 834-842.
- Lennerz JK, Dentsch C, Bernardini N, Hummel T, Neuhuber WL, Reeh PW (2007) Electrophysiological characterization of vagal afferents relevant to mucosal nociception in the rat upper oesophagus. *J Physiol* 582:229-242.
- Lepage P, Colombet J, Marteau P, Sime-Ngando T, Dore J, Leclerc M (2008) Dysbiosis in inflammatory bowel disease: a role for bacteriophages? *Gut* 57:424-425.
- Lerebours E, Gower-Rousseau C, Merle V, Brazier F, Debeugny S, Marti R, Salomez JL, Hellot MF, Dupas JL, Colombel JF, Cortot A, Benichou J (2007) Stressful life events as a risk factor for inflammatory bowel disease onset: A population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 102:122-131.
- Lettesjo H, Hansson T, Peterson C, Ung KA, Ringstrom G, Abrahamsson H, Simren M (2006) Detection of inflammatory markers in stools from patients with irritable bowel syndrome and collagenous colitis. *Scand J Gastroenterol* 41:54-59.
- Lever IJ, Bradbury EJ, Cunningham JR, Adelson DW, Jones MG, McMahon SB, Marvizon JC, Malcangio M (2001) Brain-derived neurotrophic factor is released in the dorsal horn by distinctive patterns of afferent fiber stimulation. *J Neurosci* 21:4469-4477.
- Levine B, Deretic V (2007) Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 7:767-777.
- Levy RL, Jones KR, Whitehead WE, Feld SI, Talley NJ, Corey LA (2001) Irritable bowel syndrome in twins: heredity and social learning both contribute to etiology. *Gastroenterology* 121:799-804.
- Lewin GR, Rueff A, Mendell LM (1994) Peripheral and central mechanisms of NGF-induced hyperalgesia. *Eur J Neurosci* 6:1903-1912.
- Libioulle C, Louis E, Hansoul S, Sandor C, Farnir F, Franchimont D, Vermeire S, Dewit O, de Vos M, Dixon A, Demarche B, Gut I, Heath S, Foglio M, Liang L, Laukens D, Mni M, Zelenika D, Van Gossum A, Rutgeerts P, Belaiche J, Lathrop M, Georges M (2007) Novel Crohn disease locus identified by genome-wide association maps to a gene desert on 5p13.1 and modulates expression of PTGER4. *PLoS Genet* 3:e58.
- Lichtenstein GR, Abreu MT, Cohen R, Tremaine W (2006) American Gastroenterological Association Institute technical review on corticosteroids, immunomodulators, and infliximab in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 130:940-987.

- Lieberman MD, Jarcho JM, Berman S, Naliboff BD, Suyenobu BY, Mandelkern M, Mayer EA (2004) The neural correlates of placebo effects: a disruption account. *Neuroimage* 22:447-455.
- Lin A, Lourensens S, Stanzel RD, Blennerhassett MG (2005a) Nerve growth factor sensitivity is broadly distributed among myenteric neurons of the rat colon. *J Comp Neurol* 490:194-206.
- Lin J, Peng L, Itzkowitz S, Holzman IR, Babyatsky MW (2005b) Short-chain fatty acid induces intestinal mucosal injury in newborn rats and down-regulates intestinal trefoil factor gene expression in vivo and in vitro. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 41:607-611.
- Lin Z, Poritz L, Franke A, Li TY, Ruether A, Byrnes KA, Wang Y, Gebhard AW, Macneill C, Thomas NJ, Schreiber S, Koltun WA (2009) Genetic Association of Nonsynonymous Variants of the IL23R with Familial and Sporadic Inflammatory Bowel Disease in Women. *Dig Dis Sci*.
- Linden DR, Couvrette JM, Ciolino A, McQuoid C, Blaszyk H, Sharkey KA, Mawe GM (2005) Indiscriminate loss of myenteric neurones in the TNBS-inflamed guinea-pig distal colon. *Neurogastroenterol Motil* 17:751-760.
- Lindgren S, Stewenius J, Sjolund K, Lilja B, Sundkvist G (1993) Autonomic vagal nerve dysfunction in patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 28:638-642.
- Lindsay JO, Whelan K, Stagg AJ, Gobin P, Al-Hassi HO, Rayment N, Kamm MA, Knight SC, Forbes A (2006) Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. *Gut* 55:348-355.
- Lingueglia E, Deval E, Lazdunski M (2006) FMRFamide-gated sodium channel and ASIC channels: a new class of ionotropic receptors for FMRFamide and related peptides. *Peptides* 27:1138-1152.
- Lingueglia E, de Weille JR, Bassilana F, Heurteaux C, Sakai H, Waldmann R, Lazdunski M (1997) A modulatory subunit of acid sensing ion channels in brain and dorsal root ganglion cells. *J Biol Chem* 272:29778-29783.
- Lipska BK, Weinberger DR (2000) To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* 23:223-239.
- Liu Y, van Kruiningen HJ, West AB, Cartun RW, Cortot A, Colombel JF (1995) Immunocytochemical evidence of *Listeria*, *Escherichia coli*, and *Streptococcus* antigens in Crohn's disease. *Gastroenterology* 108:1396-1404.
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25:402-408.
- Loftus EV, Jr. (2004) Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 126:1504-1517.
- Lomer MC, Thompson RP, Powell JJ (2002) Fine and ultrafine particles of the diet: influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease. *Proc Nutr Soc* 61:123-130.
- Longhurst JC (1995) Chemosensitive abdominal visceral afferents, IASP Press Edition.
- Lordal M, Navalesi G, Theodorsson E, Maggi CA, Hellstrom PM (2001) A novel tachykinin NK2 receptor antagonist prevents motility-stimulating effects of neurokinin A in small intestine. *Br J Pharmacol* 134:215-223.
- Lu B, Su Y, Das S, Wang H, Wang Y, Liu J, Ren D (2009) Peptide neurotransmitters activate a cation channel complex of NALCN and UNC-80. *Nature* 457:741-744.
- Luhrs H, Gerke T, Muller JG, Melcher R, Schaubert J, Boxberge F, Scheppach W, Menzel T (2002) Butyrate inhibits NF-kappaB activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 37:458-466.
- Luo XG, Rush RA, Zhou XF (2001) Ultrastructural localization of brain-derived

- neurotrophic factor in rat primary sensory neurons. *Neurosci Res* 39:377-384.
- Luo ZD, Calcutt NA, Higuera ES, Valder CR, Song YH, Svensson CI, Myers RR (2002) Injury type-specific calcium channel alpha 2 delta-1 subunit up-regulation in rat neuropathic pain models correlates with antiallodynic effects of gabapentin. *J Pharmacol Exp Ther* 303:1199-1205.
- Lysy J, Sistiery-Iltah M, Israelit Y, Shmueli A, Strauss-Liviatan N, Mindrul V, Keret D, Goldin E (2003) Topical capsaicin--a novel and effective treatment for idiopathic intractable pruritus ani: a randomised, placebo controlled, crossover study. *Gut* 52:1323-1326.
- Ma D, Wolvers D, Stanis AM, Bienenstock J (2003) Interleukin-10 and nerve growth factor have reciprocal upregulatory effects on intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284:R1323-1329.
- Macfarlane S, Steed H, Macfarlane GT (2009) Intestinal bacteria and inflammatory bowel disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 46:25-54.
- Macpherson A, Khoo UY, Forgacs I, Philpott-Howard J, Bjarnason I (1996) Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria. *Gut* 38:365-375.
- Macsharry J, O'Mahony L, Fanning A, Bairead E, Sherlock G, Tiesman J, Fulmer A, Kiely B, Dinan TG, Shanahan F, Quigley EM (2008) Mucosal cytokine imbalance in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 43:1467-1476.
- Maingret F, Coste B, Padilla F, Clerc N, Crest M, Korogod SM, Delmas P (2008) Inflammatory mediators increase Nav1.9 current and excitability in nociceptors through a coincident detection mechanism. *J Gen Physiol* 131:211-225.
- Malcolm A, Camilleri M (2000) Coloanal motor coordination in association with high-amplitude colonic contractions after pharmacological stimulation. *Am J Gastroenterol* 95:715-719.
- Malin SA, Christianson JA, Bielefeldt K, Davis BM (2009) TPRV1 expression defines functionally distinct pelvic colon afferents. *J Neurosci* 29:743-752.
- Malinen E, Rinttila T, Kajander K, Matto J, Kassinen A, Krogus L, Saarela M, Korpela R, Palva A (2005) Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR. *Am J Gastroenterol* 100:373-382.
- Mamet J, Lazdunski M, Voilley N (2003) How nerve growth factor drives physiological and inflammatory expressions of acid-sensing ion channel 3 in sensory neurons. *J Biol Chem* 278:48907-48913.
- Mamet J, Baron A, Lazdunski M, Voilley N (2002) Proinflammatory mediators, stimulators of sensory neuron excitability via the expression of acid-sensing ion channels. *J Neurosci* 22:10662-10670.
- Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT (2006) Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 441:231-234.
- Manning AP, Thompson WG, Heaton KW, Morris AF (1978) Towards positive diagnosis of the irritable bowel. *Br Med J* 2:653-654.
- Mannion RJ, Costigan M, Decosterd I, Amaya F, Ma QP, Holstege JC, Ji RR, Acheson A, Lindsay RM, Wilkinson GA, Woolf CJ (1999) Neurotrophins: peripherally and centrally acting modulators of tactile stimulus-induced inflammatory pain hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:9385-9390.
- Mantyh CR, Vigna SR, Bollinger RR, Mantyh PW, Maggio JE, Pappas TN (1995) Differential expression of substance P receptors in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 109:850-860.
- Marceau F, Regoli D (2008) Therapeutic options in inflammatory bowel disease:

- experimental evidence of a beneficial effect of kinin B1 receptor blockade. *Br J Pharmacol* 154:1163-1165.
- Martin B, Banz A, Bienvenu B, Cordier C, Dautigny N, Becourt C, Lucas B (2004) Suppression of CD4+ T lymphocyte effector functions by CD4+CD25+ cells in vivo. *J Immunol* 172:3391-3398.
- Mason P (1999) Central mechanisms of pain modulation. *Curr Opin Neurobiol* 9:436-441.
- Mathew CG (2008) New links to the pathogenesis of Crohn disease provided by genome-wide association scans. *Nat Rev Genet* 9:9-14.
- Matthews PJ, Aziz Q, Facer P, Davis JB, Thompson DG, Anand P (2004) Increased capsaicin receptor TRPV1 nerve fibres in the inflamed human oesophagus. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 16:897-902.
- Matto J, Maunuksela L, Kajander K, Palva A, Korpela R, Kassinen A, Saarela M (2005) Composition and temporal stability of gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome--a longitudinal study in IBS and control subjects. *FEMS Immunol Med Microbiol* 43:213-222.
- Maunder RG, Levenstein S (2008) The role of stress in the development and clinical course of inflammatory bowel disease: epidemiological evidence. *Curr Mol Med* 8:247-252.
- Mawdsley JE, Rampton DS (2006) The role of psychological stress in inflammatory bowel disease. *Neuroimmunomodulation* 13:327-336.
- Maxwell PR, Mendall MA, Kumar D (1997) Irritable bowel syndrome. *Lancet* 350:1691-1695.
- Maxwell PR, Rink E, Kumar D, Mendall MA (2002) Antibiotics increase functional abdominal symptoms. *Am J Gastroenterol* 97:104-108.
- Mayer EA, Gebhart GF (1994) Basic and clinical aspects of visceral hyperalgesia. *Gastroenterology* 107:271-293.
- Mayer EA, Collins SM (2002) Evolving pathophysiologic models of functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology* 122:2032-2048.
- Mayer EA, Naliboff BD, Chang L, Coutinho SV (2001) V. Stress and irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280:G519-524.
- Mazumdar S, Das KM (1992) Immunocytochemical localization of vasoactive intestinal peptide and substance P in the colon from normal subjects and patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 87:176-181.
- Mazucca M, Heurteaux C, Alloui A, Diochot S, Baron A, Voilley N, Blondeau N, Escoubas P, Gelot A, Cupo A, Zimmer A, Zimmer AM, Eschalier A, Lazdunski M (2007) A tarantula peptide against pain via ASIC1a channels and opioid mechanisms. *Nat Neurosci* 10:943-945.
- McClane SJ, Rombeau JL (1999) Cytokines and inflammatory bowel disease: a review. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 23:S20-24.
- McGivern JG (2006) Targeting N-type and T-type calcium channels for the treatment of pain. *Drug Discov Today* 11:245-253.
- McGuckin MA, Eri R, Simms LA, Florin TH, Radford-Smith G (2009) Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 15:100-113.
- McKee DP, Quigley EM (1993a) Intestinal motility in irritable bowel syndrome: is IBS a motility disorder? Part 1. Definition of IBS and colonic motility. *Dig Dis Sci* 38:1761-1772.
- McKee DP, Quigley EM (1993b) Intestinal motility in irritable bowel syndrome: is IBS a motility disorder? Part 2. Motility of the small bowel, esophagus, stomach, and gall-bladder. *Dig Dis Sci* 38:1773-1782.
- McKendrick MW, Read NW (1994) Irritable bowel syndrome--post salmonella infection. *J*

- Infect 29:1-3.
- McMahon SB, Armanini MP, Ling LH, Phillips HS (1994) Expression and coexpression of Trk receptors in subpopulations of adult primary sensory neurons projecting to identified peripheral targets. *Neuron* 12:1161-1171.
- Meaney MJ, Diorio J, Francis D, Widdowson J, LaPlante P, Caldji C, Sharma S, Seckl JR, Plotsky PM (1996) Early environmental regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene expression: implications for adrenocortical responses to stress. *Dev Neurosci* 18:49-72.
- Mearadji B, Penning C, Vu MK, van der Schaar PJ, van Petersen AS, Kamerling IM, Masclee AA (2001) Influence of gender on proximal gastric motor and sensory function. *Am J Gastroenterol* 96:2066-2073.
- Mearin F, Perez-Oliveras M, Perello A, Vinyet J, Ibanez A, Coderch J, Perona M (2005) Dyspepsia and irritable bowel syndrome after a Salmonella gastroenteritis outbreak: one-year follow-up cohort study. *Gastroenterology* 129:98-104.
- Mendell LM, Albers KM, Davis BM (1999) Neurotrophins, nociceptors, and pain. *Microsc Res Tech* 45:252-261.
- Merighi A, Carmignoto G, Gobbo S, Lossi L, Salio C, Vergnano AM, Zonta M (2004) Neurotrophins in spinal cord nociceptive pathways. *Prog Brain Res* 146:291-321.
- Mertz H (2002) Role of the brain and sensory pathways in gastrointestinal sensory disorders in humans. *Gut* 51 Suppl 1:i29-33.
- Mertz H, Naliboff B, Munakata J, Niazi N, Mayer EA (1995) Altered rectal perception is a biological marker of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 109:40-52.
- Messinger RB, Naik AK, Jagodic MM, Nelson MT, Lee WY, Choe WJ, Orestes P, Latham JR, Todorovic SM, Jevtovic-Todorovic V (2009) In vivo silencing of the Ca(V)3.2 T-type calcium channels in sensory neurons alleviates hyperalgesia in rats with streptozocin-induced diabetic neuropathy. *Pain* 145:184-195.
- Mezey E, Toth ZE, Cortright DN, Arzubi MK, Krause JE, Elde R, Guo A, Blumberg PM, Szallasi A (2000) Distribution of mRNA for vanilloid receptor subtype 1 (VR1), and VR1-like immunoreactivity, in the central nervous system of the rat and human. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:3655-3660.
- Miampamba M, Sharkey KA (1998) Distribution of calcitonin gene-related peptide, somatostatin, substance P and vasoactive intestinal polypeptide in experimental colitis in rats. *Neurogastroenterol Motil* 10:315-329.
- Michael GJ, Averill S, Nitkunan A, Rattray M, Bennett DL, Yan Q, Priestley JV (1997) Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *J Neurosci* 17:8476-8490.
- Michelsen KS, Arditi M (2007) Toll-like receptors and innate immunity in gut homeostasis and pathology. *Curr Opin Hematol* 14:48-54.
- Millan MJ (2002) Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66:355-474.
- Miranda A, Peles S, Rudolph C, Shaker R, Sengupta JN (2004) Altered visceral sensation in response to somatic pain in the rat. *Gastroenterology* 126:1082-1089.
- Moayyedi P, Ford AC, Talley NJ, Cremonini F, Foxx-Orenstein A, Brandt L, Quigley E (2008) The efficacy of probiotics in the therapy of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut*.
- Moehle C, Ackermann N, Langmann T, Aslanidis C, Kel A, Kel-Margoulis O, Schmitz-Madry A, Zahn A, Stremmel W, Schmitz G (2006) Aberrant intestinal expression and allelic variants of mucin genes associated with inflammatory bowel disease. *J Mol Med* 84:1055-1066.

- Mogil JS, Breese NM, Witty MF, Ritchie J, Rainville ML, Ase A, Abbadi N, Stucky CL, Seguela P (2005) Transgenic expression of a dominant-negative ASIC3 subunit leads to increased sensitivity to mechanical and inflammatory stimuli. *J Neurosci* 25:9893-9901.
- Monnikes H, Tebbe JJ, Hildebrandt M, Arck P, Osmanoglou E, Rose M, Klapp B, Wiedenmann B, Heymann-Monnikes I (2001) Role of stress in functional gastrointestinal disorders. Evidence for stress-induced alterations in gastrointestinal motility and sensitivity. *Dig Dis* 19:201-211.
- Montano JA, Calavia MG, Garcia-Suarez O, Suarez-Quintanilla JA, Galvez A, Perez-Pinera P, Cobo J, Vega JA (2009) The expression of ENa(+)C and ASIC2 proteins in Pacinian corpuscles is differently regulated by TrkB and its ligands BDNF and NT-4. *Neurosci Lett* 463:114-118.
- Moore JW, Babidge W, Millard S, Roediger WE (1997) Effect of sulphide on short chain acyl-CoA metabolism in rat colonocytes. *Gut* 41:77-81.
- Moriez R, Abdo H, Chaumette T, Faure M, Lardeux B, Neunlist M (2009) Neuroplasticity and neuroprotection in enteric neurons: role of epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 382:577-582.
- Morris-Yates A, Talley NJ, Boyce PM, Nandurkar S, Andrews G (1998) Evidence of a genetic contribution to functional bowel disorder. *Am J Gastroenterol* 93:1311-1317.
- Mortensen PB, Andersen JR, Arffmann S, Krag E (1987) Short-chain fatty acids and the irritable bowel syndrome: the effect of wheat bran. *Scand J Gastroenterol* 22:185-192.
- Mousa SA, Cheppudira BP, Shaqura M, Fischer O, Hofmann J, Hellweg R, Schafer M (2007) Nerve growth factor governs the enhanced ability of opioids to suppress inflammatory pain. *Brain* 130:502-513.
- Mowat AM (2003) Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 3:331-341.
- Mulak A, Bonaz B (2004) Irritable bowel syndrome: a model of the brain-gut interactions. *Med Sci Monit* 10:RA55-62.
- Murakami M, Ohta T, Ito S (2008) Interleukin-1beta enhances the action of bradykinin in rat myenteric neurons through up-regulation of glial B1 receptor expression. *Neuroscience* 151:222-231.
- Na HS, Choi S, Kim J, Park J, Shin HS (2008) Attenuated neuropathic pain in Cav3.1 null mice. *Mol Cells* 25:242-246.
- Naliboff BD, Mayer EA (2006) Brain imaging in IBS: drawing the line between cognitive and non-cognitive processes. *Gastroenterology* 130:267-270.
- Naliboff BD, Berman S, Chang L, Derbyshire SW, Suyenobu B, Vogt BA, Mandelkern M, Mayer EA (2003) Sex-related differences in IBS patients: central processing of visceral stimuli. *Gastroenterology* 124:1738-1747.
- Naliboff BD, Berman S, Suyenobu B, Labus JS, Chang L, Stains J, Mandelkern MA, Mayer EA (2006) Longitudinal change in perceptual and brain activation response to visceral stimuli in irritable bowel syndrome patients. *Gastroenterology* 131:352-365.
- Nancey S, Moussata D, Graber I, Claudel S, Saurin JC, Flourie B (2005) Tumor necrosis factor alpha reduces butyrate oxidation in vitro in human colonic mucosa: a link from inflammatory process to mucosal damage? *Inflamm Bowel Dis* 11:559-566.
- Neal KR, Hebden J, Spiller R (1997) Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *Bmj* 314:779-782.
- Nedjic J, Aichinger M, Emmerich J, Mizushima N, Klein L (2008) Autophagy in thymic epithelium shapes the T-cell repertoire and is essential for tolerance. *Nature*

455:396-400.

- Nelson MT, Joksovic PM, Perez-Reyes E, Todorovic SM (2005) The endogenous redox agent L-cysteine induces T-type Ca^{2+} channel-dependent sensitization of a novel subpopulation of rat peripheral nociceptors. *J Neurosci* 25:8766-8775.
- Nelson MT, Woo J, Kang HW, Vitko I, Barrett PQ, Perez-Reyes E, Lee JH, Shin HS, Todorovic SM (2007) Reducing agents sensitize C-type nociceptors by relieving high-affinity zinc inhibition of T-type calcium channels. *J Neurosci* 27:8250-8260.
- Ness TJ, Gebhart GF (1988a) Characterization of neurons responsive to noxious colorectal distension in the T13-L2 spinal cord of the rat. *J Neurophysiol* 60:1419-1438.
- Ness TJ, Gebhart GF (1988b) Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiologic and pharmacologic characterization of pseudoaffective reflexes in the rat. *Brain Res* 450:153-169.
- Ness TJ, Gebhart GF (1989) Characterization of superficial T13-L2 dorsal horn neurons encoding for colorectal distension in the rat: comparison with neurons in deep laminae. *Brain Res* 486:301-309.
- Ness TJ, Gebhart GF (2000) Acute inflammation differentially alters the activity of two classes of rat spinal visceral nociceptive neurons. *Neurosci Lett* 281:131-134.
- Neumann S, Doubell TP, Leslie T, Woolf CJ (1996) Inflammatory pain hypersensitivity mediated by phenotypic switch in myelinated primary sensory neurons. *Nature* 384:360-364.
- Neunlist M, Aubert P, Toquet C, Oreshkova T, Barouk J, Lehur PA, Schemann M, Galmiche JP (2003) Changes in chemical coding of myenteric neurones in ulcerative colitis. *Gut* 52:84-90.
- Newton R (2000) Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? *Thorax* 55:603-613.
- Nguyen GC, Torres EA, Regueiro M, Bromfield G, Bitton A, Stempak J, Dassopoulos T, Schumm P, Gregory FJ, Griffiths AM, Hanauer SB, Hanson J, Harris ML, Kane SV, Orkwis HK, Lahaie R, Oliva-Hemker M, Pare P, Wild GE, Rioux JD, Yang H, Duerr RH, Cho JH, Steinhart AH, Brant SR, Silverberg MS (2006) Inflammatory bowel disease characteristics among African Americans, Hispanics, and non-Hispanic Whites: characterization of a large North American cohort. *Am J Gastroenterol* 101:1012-1023.
- Nguyen HX, O'Barr TJ, Anderson AJ (2007) Polymorphonuclear leukocytes promote neurotoxicity through release of matrix metalloproteinases, reactive oxygen species, and TNF-alpha. *J Neurochem* 102:900-912.
- Nguyen P, Lee SD, Castell DO (1995) Evidence of gender differences in esophageal pain threshold. *Am J Gastroenterol* 90:901-905.
- Niess JH (2008) Role of mucosal dendritic cells in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 14:5138-5148.
- Nobaek S, Johansson ML, Molin G, Ahrne S, Jeppsson B (2000) Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 95:1231-1238.
- Nozu T, Kudaira M (2006) Corticotropin-releasing factor induces rectal hypersensitivity after repetitive painful rectal distention in healthy humans. *J Gastroenterol* 41:740-744.
- O'Brien MD, Phillips SF (1996) Colonic motility in health and disease. *Gastroenterol Clin North Am* 25:147-162.
- O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Bredin CP, Shanahan F (2004) The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol* 201:167-180.

- O'Keefe SJ (1996) Nutrition and gastrointestinal disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 220:52-59.
- O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Hurley G, Luo F, Chen K, O'Sullivan GC, Kiely B, Collins JK, Shanahan F, Quigley EM (2005) Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* 128:541-551.
- O'Sullivan M, Clayton N, Breslin NP, Harman I, Bountra C, McLaren A, O'Morain CA (2000) Increased mast cells in the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 12:449-457.
- O'Sullivan MA, O'Morain CA (2000) Bacterial supplementation in the irritable bowel syndrome. A randomised double-blind placebo-controlled crossover study. *Dig Liver Dis* 32:294-301.
- Oddiah D, Anand P, McMahon SB, Rattray M (1998) Rapid increase of NGF, BDNF and NT-3 mRNAs in inflamed bladder. *Neuroreport* 9:1455-1458.
- Odeh F, Antal M (2001) The projections of the midbrain periaqueductal grey to the pons and medulla oblongata in rats. *Eur J Neurosci* 14:1275-1286.
- Ogura Y, Inohara N, Benito A, Chen FF, Yamaoka S, Nunez G (2001) Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J Biol Chem* 276:4812-4818.
- Okano S, Ikeura Y, Inatomi N (2002) Effects of tachykinin NK1 receptor antagonists on the viscerosensory response caused by colorectal distention in rabbits. *J Pharmacol Exp Ther* 300:925-931.
- Okano S, Nagaya H, Ikeura Y, Natsugari H, Inatomi N (2001) Effects of TAK-637, a novel neurokinin-1 receptor antagonist, on colonic function in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 298:559-564.
- Okoro NI, Kane SV (2009) Gender-related issues in the female inflammatory bowel disease patient. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 3:145-154.
- Ozaki N, Sengupta JN, Gebhart GF (1999) Mechanosensitive properties of gastric vagal afferent fibers in the rat. *J Neurophysiol* 82:2210-2220.
- Page AJ, Brierley SM, Martin CM, Hughes PA, Blackshaw LA (2007) Acid sensing ion channels 2 and 3 are required for inhibition of visceral nociceptors by benzamil. *Pain*.
- Page AJ, Brierley SM, Martin CM, Price MP, Symonds E, Butler R, Wemmie JA, Blackshaw LA (2005) Different contributions of ASIC channels 1a, 2, and 3 in gastrointestinal mechanosensory function. *Gut* 54:1408-1415.
- Page AJ, Brierley SM, Martin CM, Martinez-Salgado C, Wemmie JA, Brennan TJ, Symonds E, Omari T, Lewin GR, Welsh MJ, Blackshaw LA (2004) The ion channel ASIC1 contributes to visceral but not cutaneous mechanoreceptor function. *Gastroenterology* 127:1739-1747.
- Palecek J, Paleckova V, Willis WD (2003) Postsynaptic dorsal column neurons express NK1 receptors following colon inflammation. *Neuroscience* 116:565-572.
- Papka RE, Mowa CN (2003) Estrogen receptors in the spinal cord, sensory ganglia, and pelvic autonomic ganglia. *Int Rev Cytol* 231:91-127.
- Park MI, Camilleri M (2005) Genetics and genotypes in irritable bowel syndrome: implications for diagnosis and treatment. *Gastroenterol Clin North Am* 34:305-317.
- Parkes GC, Brostoff J, Whelan K, Sanderson JD (2008) Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: their role in its pathogenesis and treatment. *Am J Gastroenterol* 103:1557-1567.
- Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, Roberts RG, Nimmo ER, Cummings FR, Soars D, Drummond H, Lees CW, Khawaja SA, Bagnall

- R, Burke DA, Todhunter CE, Ahmad T, Onnie CM, McArdle W, Strachan D, Bethel G, Bryan C, Lewis CM, Deloukas P, Forbes A, Sanderson J, Jewell DP, Satsangi J, Mansfield JC, Cardon L, Mathew CG (2007) Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 39:830-832.
- Parry SD, Stansfield R, Jelley D, Gregory W, Phillips E, Barton JR, Welfare MR (2003a) Does bacterial gastroenteritis predispose people to functional gastrointestinal disorders? A prospective, community-based, case-control study. *Am J Gastroenterol* 98:1970-1975.
- Parry SD, Stansfield R, Jelley D, Gregory W, Phillips E, Barton JR, Welfare MR (2003b) Is irritable bowel syndrome more common in patients presenting with bacterial gastroenteritis? A community-based, case-control study. *Am J Gastroenterol* 98:327-331.
- Patapoutian A, Reichardt LF (2001) Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr Opin Neurobiol* 11:272-280.
- Peeters M, Nevens H, Baert F, Hiele M, de Meyer AM, Vlietinck R, Rutgeerts P (1996) Familial aggregation in Crohn's disease: increased age-adjusted risk and concordance in clinical characteristics. *Gastroenterology* 111:597-603.
- Perez-Reyes E (2003) Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. *Physiol Rev* 83:117-161.
- Pesquero JB, Araujo RC, Heppenstall PA, Stucky CL, Silva JA, Jr., Walther T, Oliveira SM, Pesquero JL, Paiva AC, Calixto JB, Lewin GR, Bader M (2000) Hypoalgesia and altered inflammatory responses in mice lacking kinin B1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:8140-8145.
- Petrovic P, Petersson KM, Hansson P, Ingvar M (2002) A regression analysis study of the primary somatosensory cortex during pain. *Neuroimage* 16:1142-1150.
- Pezet S, McMahon SB (2006) Neurotrophins: mediators and modulators of pain. *Annu Rev Neurosci* 29:507-538.
- Pezet S, Onteniente B, Jullien J, Junier MP, Grannec G, Rudkin BB, Calvino B (2001) Differential regulation of NGF receptors in primary sensory neurons by adjuvant-induced arthritis in the rat. *Pain* 90:113-125.
- Phan KL, Wager TD, Taylor SF, Liberzon I (2004) Functional neuroimaging studies of human emotions. *CNS Spectr* 9:258-266.
- Pimentel M, Chow EJ, Lin HC (2000) Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 95:3503-3506.
- Pimentel M, Kong Y, Park S (2003) Breath testing to evaluate lactose intolerance in irritable bowel syndrome correlates with lactulose testing and may not reflect true lactose malabsorption. *Am J Gastroenterol* 98:2700-2704.
- Plourde V, St-Pierre S, Quirion R (1997) Calcitonin gene-related peptide in viscerosensitive response to colorectal distension in rats. *Am J Physiol* 273:G191-196.
- Podolsky DK (2002) Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 347:417-429.
- Porcelli P (2004) Psychological abnormalities in patients with irritable bowel syndrome. *Indian J Gastroenterol* 23:63-69.
- Porcher C, Baldo M, Henry M, Orsoni P, Jule Y, Ward SM (2002) Deficiency of interstitial cells of Cajal in the small intestine of patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 97:118-125.
- Porreca F, Ossipov MH, Gebhart GF (2002) Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci* 25:319-325.
- Posserud I, Agerforz P, Ekman R, Bjornsson ES, Abrahamsson H, Simren M (2004)

- Altered visceral perceptual and neuroendocrine response in patients with irritable bowel syndrome during mental stress. *Gut* 53:1102-1108.
- Prantera C, Scribano ML, Falasco G, Andreoli A, Luzi C (2002) Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus GG*. *Gut* 51:405-409.
- Prather CM, Camilleri M, Zinsmeister AR, McKinzie S, Thomforde G (2000) Tegaserod accelerates orocecal transit in patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 118:463-468.
- Prescott NJ, Fisher SA, Franke A, Hampe J, Onnie CM, Soars D, Bagnall R, Mirza MM, Sanderson J, Forbes A, Mansfield JC, Lewis CM, Schreiber S, Mathew CG (2007) A nonsynonymous SNP in *ATG16L1* predisposes to ileal Crohn's disease and is independent of *CARD15* and *IBD5*. *Gastroenterology* 132:1665-1671.
- Priest BT, Murphy BA, Lindia JA, Diaz C, Abbadie C, Ritter AM, Liberator P, Iyer LM, Kash SF, Kohler MG, Kaczorowski GJ, MacIntyre DE, Martin WJ (2005) Contribution of the tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel *Nav1.9* to sensory transmission and nociceptive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:9382-9387.
- Prior A, Read NW (1993) Reduction of rectal sensitivity and post-prandial motility by granisetron, a 5-HT₃-receptor antagonist, in patients with irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 7:175-180.
- Prior A, Maxton DG, Whorwell PJ (1990) Anorectal manometry in irritable bowel syndrome: differences between diarrhoea and constipation predominant subjects. *Gut* 31:458-462.
- Pua HH, He YW (2007) Maintaining T lymphocyte homeostasis: another duty of autophagy. *Autophagy* 3:266-267.
- Purves D, Augustine G, Fitzpatrick D, Hall W, LaMantia A, McNamara J, Williams S (2005) *Neurosciences*. Bruxelles: De Boeck Université.
- Quigley EM (1999) Disturbances in small bowel motility. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 13:385-395.
- Quigley EM (2005a) Disturbances of motility and visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome: biological markers or epiphenomenon. *Gastroenterol Clin North Am* 34:221-233, vi.
- Quigley EM (2005b) Irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease: interrelated diseases? *Chin J Dig Dis* 6:122-132.
- Ragnarsson G, Hallbook O, Bodemar G (1999) Abdominal symptoms are not related to anorectal function in the irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 34:250-258.
- Raithel M, Schneider HT, Hahn EG (1999) Effect of substance P on histamine secretion from gut mucosa in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 34:496-503.
- Ramasundara M, Leach ST, Lemberg DA, Day AS (2009) Defensins and inflammation: the role of defensins in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 24:202-208.
- Ramer MS, Thompson SW, McMahon SB (1999) Causes and consequences of sympathetic basket formation in dorsal root ganglia. *Pain Suppl* 6:S111-120.
- Randich A, Gebhart GF (1992) Vagal afferent modulation of nociception. *Brain Res Brain Res Rev* 17:77-99.
- Rapps N, van Oudenhove L, Enck P, Aziz Q (2008) Brain imaging of visceral functions in healthy volunteers and IBS patients. *J Psychosom Res* 64:599-604.
- Rath HC, Schultz M, Freitag R, Dieleman LA, Li F, Linde HJ, Scholmerich J, Sartor RB (2001) Different subsets of enteric bacteria induce and perpetuate experimental

- colitis in rats and mice. *Infect Immun* 69:2277-2285.
- Redegeld FA, van der Heijden MW, Kool M, Heijdra BM, Garssen J, Kraneveld AD, Van Loveren H, Roholl P, Saito T, Verbeek JS, Claassens J, Koster AS, Nijkamp FP (2002) Immunoglobulin-free light chains elicit immediate hypersensitivity-like responses. *Nat Med* 8:694-701.
- Reeh PW, Kress M (2001) Molecular physiology of proton transduction in nociceptors. *Curr Opin Pharmacol* 1:45-51.
- Reichardt LF (2006) Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361:1545-1564.
- Reinshagen M, Flamig G, Ernst S, Geerling I, Wong H, Walsh JH, Eysselein VE, Adler G (1998) Calcitonin gene-related peptide mediates the protective effect of sensory nerves in a model of colonic injury. *J Pharmacol Exp Ther* 286:657-661.
- Rexed B (1952) The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol* 96:414-495.
- Richardson JD, Vasko MR (2002) Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 302:839-845.
- Riedl A, Schmidtman M, Stengel A, Goebel M, Wisser AS, Klapp BF, Monnikes H (2008) Somatic comorbidities of irritable bowel syndrome: a systematic analysis. *J Psychosom Res* 64:573-582.
- Rijnierse A, Kroese AB, Redegeld FA, Blokhuis BR, van der Heijden MW, Koster AS, Timmermans JP, Nijkamp FP, Kraneveld AD (2009) Immunoglobulin-free light chains mediate antigen-specific responses of murine dorsal root ganglion neurons. *J Neuroimmunol* 208:80-86.
- Riley PA (2004) Bacteriophages in autoimmune disease and other inflammatory conditions. *Med Hypotheses* 62:493-498.
- Ringel Y, Drossman DA, Leserman JL, Suyenobu BY, Wilber K, Lin W, Whitehead WE, Naliboff BD, Berman S, Mayer EA (2008) Effect of abuse history on pain reports and brain responses to aversive visceral stimulation: an fMRI study. *Gastroenterology* 134:396-404.
- Riordan SM, McIver CJ, Walker BM, Duncombe VM, Bolin TD, Thomas MC (1996) The lactulose breath hydrogen test and small intestinal bacterial overgrowth. *Am J Gastroenterol* 91:1795-1803.
- Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD, Silverberg MS, Goyette P, Huett A, Green T, Kuballa P, Barmada MM, Datta LW, Shugart YY, Griffiths AM, Targan SR, Ippoliti AF, Bernard EJ, Mei L, Nicolae DL, Regueiro M, Schumm LP, Steinhart AH, Rotter JI, Duerr RH, Cho JH, Daly MJ, Brant SR (2007) Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat Genet* 39:596-604.
- Ritchie J (1973) Pain from distension of the pelvic colon by inflating a balloon in the irritable colon syndrome. *Gut* 14:125-132.
- Ritter AM, Martin WJ, Thorneioe KS (2009) The voltage-gated sodium channel Nav1.9 is required for inflammation-based urinary bladder dysfunction. *Neurosci Lett* 452:28-32.
- Robbins MT, Uzzell TW, Aly S, Ness TJ (2005) Visceral nociceptive input to the area of the medullary lateral reticular nucleus ascends in the lateral spinal cord. *Neurosci Lett* 381:329-333.
- Rocha F, Laughlin R, Musch MW, Hendrickson BA, Chang EB, Alverdy J (2001) Surgical stress shifts the intestinal *Escherichia coli* population to that of a more adherent phenotype: role in barrier regulation. *Surgery* 130:65-73.
- Romero MI, Rangappa N, Li L, Lightfoot E, Garry MG, Smith GM (2000) Extensive

- sprouting of sensory afferents and hyperalgesia induced by conditional expression of nerve growth factor in the adult spinal cord. *J Neurosci* 20:4435-4445.
- Rook G, Adams V, Hunt J, Palmer R, Martinelli R, Brunet L (2004) Mycobacteria and other environmental organisms as immunomodulators for immunoregulatory disorders. .
- Roumy M, Zajac JM (1998) Neuropeptide FF, pain and analgesia. *Eur J Pharmacol* 345:1-11.
- Rousseaux C, Thuru X, Gelot A, Barnich N, Neut C, Dubuquoy L, Dubuquoy C, Merour E, Geboes K, Chamaillard M, Ouwehand A, Leyer G, Carcano D, Colombel JF, Ardid D, Desreumaux P (2007) *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nat Med* 13:35-37.
- Rueff A, Dawson AJ, Mendell LM (1996) Characteristics of nerve growth factor induced hyperalgesia in adult rats: dependence on enhanced bradykinin-1 receptor activity but not neurokinin-1 receptor activation. *Pain* 66:359-372.
- Rugiero F, Mistry M, Sage D, Black JA, Waxman SG, Crest M, Clerc N, Delmas P, Gola M (2003) Selective expression of a persistent tetrodotoxin-resistant Na⁺ current and Nav1.9 subunit in myenteric sensory neurons. *J Neurosci* 23:2715-2725.
- Rush AM, Waxman SG (2004) PGE2 increases the tetrodotoxin-resistant Nav1.9 sodium current in mouse DRG neurons via G-proteins. *Brain Res* 1023:264-271.
- Saad RJ, Chey WD (2008) Recent developments in the therapy of irritable bowel syndrome. *Expert Opin Investig Drugs* 17:117-130.
- Saito YA, Talley NJ (2008) Genetics of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 103:2100-2104; quiz 2105.
- Saito YA, Strege PR, Tester DJ, Locke GR, 3rd, Talley NJ, Bernard CE, Rae JL, Makielski JC, Ackerman MJ, Farrugia G (2009) Sodium channel mutation in irritable bowel syndrome: evidence for an ion channelopathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 296:G211-218.
- Salim AS (1992) Role of sulphhydryl-containing agents in the management of recurrent attacks of ulcerative colitis. A new approach. *Pharmacology* 45:307-318.
- Salvioli B, Serra J, Azpiroz F, Malagelada JR (2006) Impaired small bowel gas propulsion in patients with bloating during intestinal lipid infusion. *Am J Gastroenterol* 101:1853-1857.
- Sandler RS, Everhart JE, Donowitz M, Adams E, Cronin K, Goodman C, Gemmen E, Shah S, Avdic A, Rubin R (2002) The burden of selected digestive diseases in the United States. *Gastroenterology* 122:1500-1511.
- Sanoja R, Cervero F (2009) Estrogen-dependent changes in visceral afferent sensitivity. *Auton Neurosci*.
- Sanoja R, Tortorici V, Fernandez C, Price TJ, Cervero F (2009) Role of RVM neurons in capsaicin-evoked visceral nociception and referred hyperalgesia. *Eur J Pain*.
- Sanovic S, Lamb DP, Blennerhassett MG (1999) Damage to the enteric nervous system in experimental colitis. *Am J Pathol* 155:1051-1057.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS (1984) Stress down-regulates corticosterone receptors in a site-specific manner in the brain. *Endocrinology* 114:287-292.
- Sashio H, Tamura K, Ito R, Yamamoto Y, Bamba H, Kosaka T, Fukui S, Sawada K, Fukuda Y, Tamura K, Satomi M, Shimoyama T, Furuyama J (2002) Polymorphisms of the TNF gene and the TNF receptor superfamily member 1B gene are associated with susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease, respectively. *Immunogenetics* 53:1020-1027.
- Satsangi J, Welsh KI, Bunce M, Julier C, Farrant JM, Bell JI, Jewell DP (1996) Contribution of genes of the major histocompatibility complex to susceptibility and disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Lancet* 347:1212-1217.

- Scarpignato C, Pelosini I (1999) Somatostatin for upper gastrointestinal hemorrhage and pancreatic surgery. A review of its pharmacology and safety. *Digestion* 60 Suppl 3:1-16.
- Schack-Nielsen L, Michaelsen KF (2006) Breast feeding and future health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 9:289-296.
- Schemann M, Grundy D (2009) Role of hydrogen sulfide in visceral nociception. *Gut* 58:744-747.
- Scheppach W, Christl SU, Bartram HP, Richter F, Kasper H (1997) Effects of short-chain fatty acids on the inflamed colonic mucosa. *Scand J Gastroenterol Suppl* 222:53-57.
- Schmid D, Munz C (2007) Innate and adaptive immunity through autophagy. *Immunity* 27:11-21.
- Schmidt PJ, Nieman LK, Grover GN, Muller KL, Merriam GR, Rubinow DR (1991) Lack of effect of induced menses on symptoms in women with premenstrual syndrome. *N Engl J Med* 324:1174-1179.
- Schott GD (1994) Visceral afferents: their contribution to 'sympathetic dependent' pain. *Brain* 117 (Pt 2):397-413.
- Schultz M, Lindstrom AL (2008) Rationale for probiotic treatment strategies in inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2:337-355.
- Serra J, Azpiroz F, Malagelada JR (2001) Impaired transit and tolerance of intestinal gas in the irritable bowel syndrome. *Gut* 48:14-19.
- Serra J, Salvioli B, Azpiroz F, Malagelada JR (2002) Lipid-induced intestinal gas retention in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 123:700-706.
- Seybold VS (2009) The role of peptides in central sensitization. *Handb Exp Pharmacol*:451-491.
- Shafton AD, Bogeski G, Kitchener PD, Lewis VA, Sanger GJ, Furness JB (2004) Effects of the peripherally acting NK receptor antagonist, SB-235375, on intestinal and somatic nociceptive responses and on intestinal motility in anaesthetized rats. *Neurogastroenterol Motil* 16:223-231.
- Shanahan F (1999) Brain-gut axis and mucosal immunity: a perspective on mucosal psychoneuroimmunology. *Semin Gastrointest Dis* 10:8-13.
- Sharma P, Makharia GK, Ahuja V, Dwivedi SN, Deepak KK (2009) Autonomic dysfunctions in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission. *Dig Dis Sci* 54:853-861.
- Sheikh S, Uno J, Matsuoka K, Plevy S (2008) Abnormal mucosal immune response to altered bacterial flora following restorative proctocolectomy in patients with ulcerative colitis: serologic measures, immunogenetics, and clinical correlations. *Clin Immunol* 127:270-279.
- Shin HS, Cheong EJ, Choi S, Lee J, Na HS (2008) T-type Ca²⁺ channels as therapeutic targets in the nervous system. *Curr Opin Pharmacol* 8:33-41.
- Shin JB, Martinez-Salgado C, Heppenstall PA, Lewin GR (2003) A T-type calcium channel required for normal function of a mammalian mechanoreceptor. *Nat Neurosci* 6:724-730.
- Shu XQ, Mendell LM (1999) Neurotrophins and hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:7693-7696.
- Silk DB, Davis A, Vulevic J, Tzortzis G, Gibson GR (2009) Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 29:508-518.
- Simonetti M, Fabbro A, D'Arco M, Zweyer M, Nistri A, Giniatullin R, Fabbretti E (2006) Comparison of P2X and TRPV1 receptors in ganglia or primary culture of trigeminal

- neurons and their modulation by NGF or serotonin. *Mol Pain* 2:11.
- Simren M, Abrahamsson H, Bjornsson ES (2001) An exaggerated sensory component of the gastrocolonic response in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 48:20-27.
- Simren M, Stotzer PO, Sjoval H, Abrahamsson H, Bjornsson ES (2003) Abnormal levels of neuropeptide Y and peptide YY in the colon in irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15:55-62.
- Simren M, Axelsson J, Gillberg R, Abrahamsson H, Svedlund J, Bjornsson ES (2002) Quality of life in inflammatory bowel disease in remission: the impact of IBS-like symptoms and associated psychological factors. *Am J Gastroenterol* 97:389-396.
- Singh SB, Davis AS, Taylor GA, Deretic V (2006) Human IRGM induces autophagy to eliminate intracellular mycobacteria. *Science* 313:1438-1441.
- Sinn DH, Song JH, Kim HJ, Lee JH, Son HJ, Chang DK, Kim YH, Kim JJ, Rhee JC, Rhee PL (2008) Therapeutic effect of *Lactobacillus acidophilus*-SDC 2012, 2013 in patients with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 53:2714-2718.
- Skaper SD, Pollock M, Facci L (2001) Mast cells differentially express and release active high molecular weight neurotrophins. *Brain Res Mol Brain Res* 97:177-185.
- Slack SE, Pezet S, McMahon SB, Thompson SW, Malcangio M (2004) Brain-derived neurotrophic factor induces NMDA receptor subunit one phosphorylation via ERK and PKC in the rat spinal cord. *Eur J Neurosci* 20:1769-1778.
- Sloots CE, Felt-Bersma RJ, Cuesta MA, Meuwissen SG (2000) Rectal visceral sensitivity in healthy volunteers: influences of gender, age and methods. *Neurogastroenterol Motil* 12:361-368.
- Sluka KA, Price MP, Breese NM, Stucky CL, Wemmie JA, Welsh MJ (2003) Chronic hyperalgesia induced by repeated acid injections in muscle is abolished by the loss of ASIC3, but not ASIC1. *Pain* 106:229-239.
- Smith AS, Smid SD (2005) Impaired capsaicin and neurokinin-evoked colonic motility in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 20:697-704.
- Smith TK, Kang SH, Vanden Berghe P (2003) Calcium channels in enteric neurons. *Curr Opin Pharmacol* 3:588-593.
- Smout A, Azpiroz F, Coremans G, Dapoigny M, Collins S, Muller-Lissner S, Pace F, Stockbrugger R, Vatn M, Whorwell P (2000) Potential pitfalls in the differential diagnosis of irritable bowel syndrome. *Digestion* 61:247-256.
- Snutch TP, Monteil A (2007) The sodium "leak" has finally been plugged. *Neuron* 54:505-507.
- Soderholm JD, Olaison G, Peterson KH, Franzen LE, Lindmark T, Wiren M, Tagesson C, Sjobahl R (2002) Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. *Gut* 50:307-313.
- Soffer EE, Kongara K, Achkar JP, Gannon J (2000) Colonic motor function in humans is not affected by gender. *Dig Dis Sci* 45:1281-1284.
- Sokol H, Lay C, Seksik P, Tannock GW (2008) Analysis of bacterial bowel communities of IBD patients: what has it revealed? *Inflamm Bowel Dis* 14:858-867.
- Sokol H, Seksik P, Rigottier-Gois L, Lay C, Lepage P, Podglajen I, Marteau P, Dore J (2006) Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 12:106-111.
- Southwick SM, Davis M, Horner B, Cahill L, Morgan CA, 3rd, Gold PE, Bremner JD, Charney DC (2002) Relationship of enhanced norepinephrine activity during memory consolidation to enhanced long-term memory in humans. *Am J Psychiatry* 159:1420-1422.
- Spaziani R, Bayati A, Redmond K, Bajaj H, Mazzadi S, Bienenstock J, Collins SM, Kamath MV (2008) Vagal dysfunction in irritable bowel syndrome assessed by rectal

- distension and baroreceptor sensitivity. *Neurogastroenterol Motil* 20:336-342.
- Spiller RC (2003a) Treatment of Irritable Bowel Syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 6:329-337.
- Spiller RC (2003b) Postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 124:1662-1671.
- Spiller RC (2007) Role of infection in irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol* 42 Suppl 17:41-47.
- Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, Neal KR (2000) Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 47:804-811.
- Stadnicki A, Pastucha E, Nowaczyk G, Mazurek U, Plewka D, Machnik G, Wilczok T, Colman RW (2005) Immunolocalization and expression of kinin B1R and B2R receptors in human inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289:G361-366.
- Stam R, Ekkelenkamp K, Frankhuijzen AC, Bruijnzeel AW, Akkermans LM, Wiegant VM (2002) Long-lasting changes in central nervous system responsivity to colonic distention after stress in rats. *Gastroenterology* 123:1216-1225.
- Stanzel RD, Lourensens S, Blennerhassett MG (2008) Inflammation causes expression of NGF in epithelial cells of the rat colon. *Exp Neurol* 211:203-213.
- Stein J, Zores M, Schroder O (2000) Short-chain fatty acid (SCFA) uptake into Caco-2 cells by a pH-dependent and carrier mediated transport mechanism. *Eur J Nutr* 39:121-125.
- Stokkers PC, Reitsma PH, Tytgat GN, van Deventer SJ (1999) HLA-DR and -DQ phenotypes in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Gut* 45:395-401.
- Sugiura T, Bielefeldt K, Gebhart GF (2007) Mouse colon sensory neurons detect extracellular acidosis via TRPV1. *Am J Physiol Cell Physiol* 292:C1768-1774.
- Summers RW, Elliott DE, Urban JF, Jr., Thompson R, Weinstock JV (2005a) *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut* 54:87-90.
- Summers RW, Elliott DE, Urban JF, Jr., Thompson RA, Weinstock JV (2005b) *Trichuris suis* therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 128:825-832.
- Sutherland L, Singleton J, Sessions J, Hanauer S, Krawitt E, Rankin G, Summers R, Mekhjian H, Greenberger N, Kelly M, et al. (1991) Double blind, placebo controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. *Gut* 32:1071-1075.
- Swayne LA, Mezghrani A, Varrault A, Chemin J, Bertrand G, Dalle S, Bourinet E, Lory P, Miller RJ, Nargeot J, Monteil A (2009) The NALCN ion channel is activated by M3 muscarinic receptors in a pancreatic beta-cell line. *EMBO Rep* 10:873-880.
- Swidsinski A, Weber J, Loening-Baucke V, Hale LP, Lochs H (2005) Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol* 43:3380-3389.
- Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening-Baucke V, Ortner M, Weber J, Hoffmann U, Schreiber S, Dietel M, Lochs H (2002) Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 122:44-54.
- Szabo V, Feher E (1991) Ultrastructural changes in the nerve elements in Crohn's disease. *Acta Chir Hung* 32:25-32.
- Szewczyk JR, Laudeman C (2003) CCK1R agonists: a promising target for the pharmacological treatment of obesity. *Curr Top Med Chem* 3:837-854.
- Tabakman R, Lecht S, Sephanova S, Arien-Zakay H, Lazarovici P (2004) Interactions between the cells of the immune and nervous system: neurotrophins as

- neuroprotection mediators in CNS injury. *Prog Brain Res* 146:387-401.
- Takahashi T (2005) Postsynaptic receptor mechanisms underlying developmental speeding of synaptic transmission. *Neurosci Res* 53:229-240.
- Takei Y, Laskey R (2008a) Interpreting crosstalk between TNF- α and NGF: potential implications for disease. *Trends Mol Med* 14:381-388.
- Takei Y, Laskey R (2008b) Tumor necrosis factor α regulates responses to nerve growth factor, promoting neural cell survival but suppressing differentiation of neuroblastoma cells. *Mol Biol Cell* 19:855-864.
- Talley NJ (2003) Pharmacologic therapy for the irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 98:750-758.
- Tamboli CP, Neut C, Desreumaux P, Colombel JF (2004) Dysbiosis as a prerequisite for IBD. *Gut* 53:1057.
- Taniguchi E, Matsunami M, Kimura T, Yonezawa D, Ishiki T, Sekiguchi F, Nishikawa H, Maeda Y, Ishikura H, Kawabata A (2009) Rhodanese, but not cystathionine- γ -lyase, is associated with dextran sulfate sodium-evoked colitis in mice: a sign of impaired colonic sulfide detoxification? *Toxicology* 264:96-103.
- Targan SR, Karp LC (2005) Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. *Immunol Rev* 206:296-305.
- Tarrerias AL, Millecamps M, Alloui A, Beaughard C, Kemeny JL, Bourdu S, Bommelaer G, Eschaliere A, Dapoigny M, Ardid D (2002) Short-chain fatty acid enemas fail to decrease colonic hypersensitivity and inflammation in TNBS-induced colonic inflammation in rats. *Pain* 100:91-97.
- Tavares I, Lima D (1994) Descending projections from the caudal medulla oblongata to the superficial or deep dorsal horn of the rat spinal cord. *Exp Brain Res* 99:455-463.
- Taylor CP, Angelotti T, Fauman E (2007) Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: the calcium channel $\alpha 2$ -delta ($\alpha 2$ -delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Res* 73:137-150.
- Taylor CT, Keely SJ (2007) The autonomic nervous system and inflammatory bowel disease. *Auton Neurosci* 133:104-114.
- Tedelind S, Westberg F, Kjerrulf M, Vidal A (2007) Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 13:2826-2832.
- ter Beek WP, Biemond I, Muller ES, van den Berg M, Lamers CB (2007) Substance P receptor expression in patients with inflammatory bowel disease. Determination by three different techniques, i.e., storage phosphor autoradiography, RT-PCR and immunohistochemistry. *Neuropeptides* 41:301-306.
- Thompson W, Dotewall G, Drossman D (1989) Irritable bowel syndrome: Guidelines for the diagnosis. *Gastroenterol Int* 2:92-95.
- Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Muller-Lissner SA (1999) Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 45 Suppl 2:II43-47.
- Tillisch K, Mayer EA, Labus JS, Stains J, Chang L, Naliboff BD (2005) Sex specific alterations in autonomic function among patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 54:1396-1401.
- Tixier E, Galmiche JP, Neunlist M (2006) Acidity induces c-Fos expression in a subpopulation of human colonic submucosal neurons. *Neurosci Lett* 404:23-27.
- Tjwa ET, Bradley JM, Keenan CM, Kroese AB, Sharkey KA (2003) Interleukin-1 β activates specific populations of enteric neurons and enteric glia in the guinea pig ileum and colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 285:G1268-1276.
- Todorovic SM, Meyenburg A, Jevtovic-Todorovic V (2004) Redox modulation of peripheral

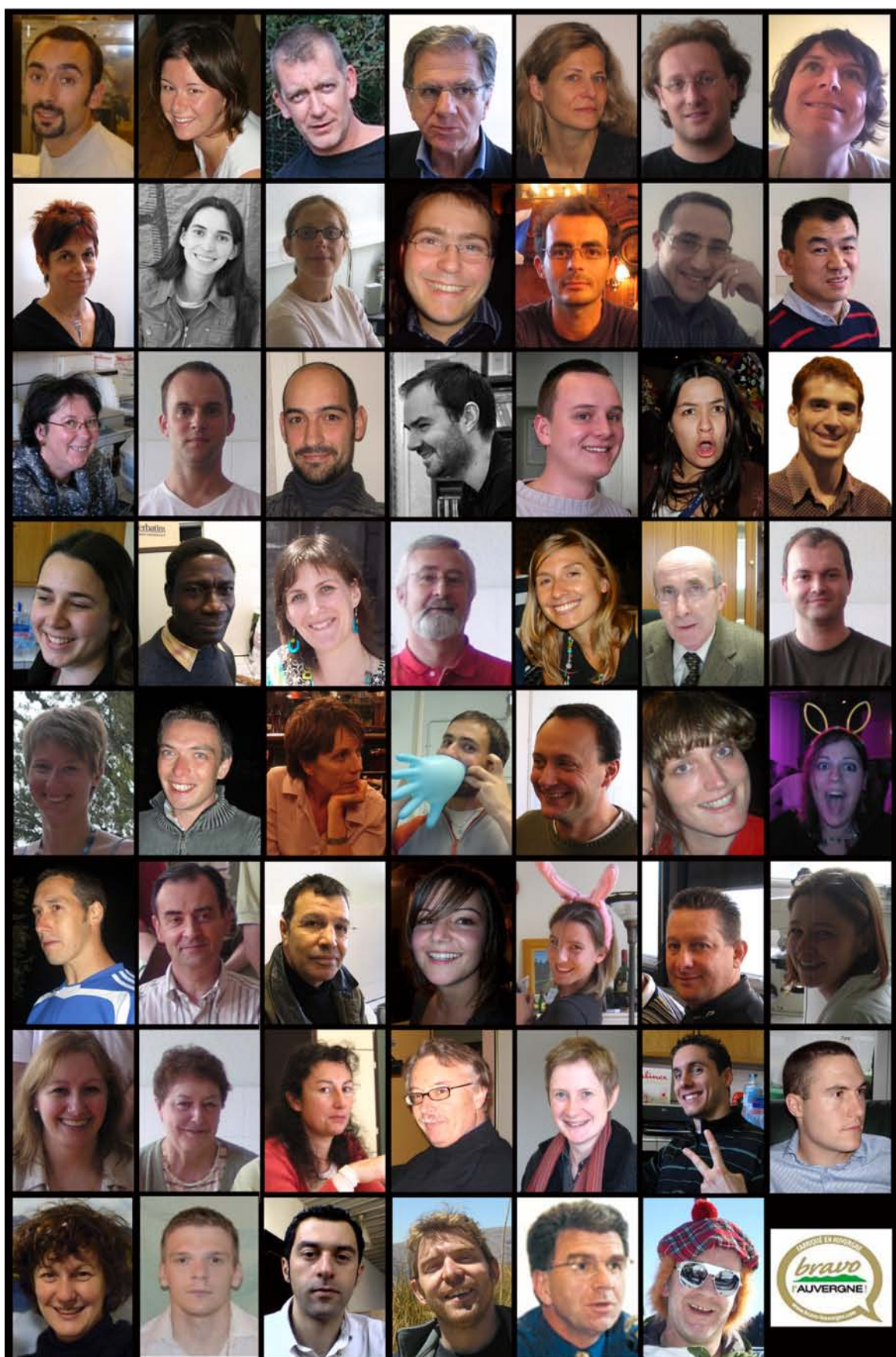
- T-type Ca^{2+} channels in vivo: alteration of nerve injury-induced thermal hyperalgesia. *Pain* 109:328-339.
- Todorovic SM, Jevtovic-Todorovic V, Meyenburg A, Mennerick S, Perez-Reyes E, Romano C, Olney JW, Zorumski CF (2001) Redox modulation of T-type calcium channels in rat peripheral nociceptors. *Neuron* 31:75-85.
- Tomita R, Tanjoh K, Fujisaki S, Fukuzawa M (2000) Peptidergic nerves in the colon of patients with ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology* 47:400-404.
- Tornblom H, Lindberg G, Nyberg B, Veress B (2002) Full-thickness biopsy of the jejunum reveals inflammation and enteric neuropathy in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 123:1972-1979.
- Tornblom H, Abrahamsson H, Barbara G, Hellstrom PM, Lindberg G, Nyhlin H, Ohlsson B, Simren M, Sjolund K, Sjoval H, Schmidt PT, Ohman L (2005) Inflammation as a cause of functional bowel disorders. *Scand J Gastroenterol* 40:1140-1148.
- Tougas G (2000) The autonomic nervous system in functional bowel disorders. *Gut* 47 Suppl 4:iv78-80; discussion iv87.
- Traub RJ (2000) Evidence for thoracolumbar spinal cord processing of inflammatory, but not acute colonic pain. *Neuroreport* 11:2113-2116.
- Traub RJ, Murphy A (2002) Colonic inflammation induces fos expression in the thoracolumbar spinal cord increasing activity in the spinoparabrachial pathway. *Pain* 95:93-102.
- Treem WR, Ahsan N, Kastoff G, Hyams JS (1996) Fecal short-chain fatty acids in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: in vitro studies of carbohydrate fermentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 23:280-286.
- Trimble KC, Farouk R, Pryde A, Douglas S, Heading RC (1995) Heightened visceral sensation in functional gastrointestinal disease is not site-specific. Evidence for a generalized disorder of gut sensitivity. *Dig Dis Sci* 40:1607-1613.
- Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti G, Nasi G (2003) Assessment of oro-caecal transit time in different localization of Crohn's disease and its possible influence on clinical response to therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15:69-74.
- Turunen UM, Farkkila MA, Hakala K, Seppala K, Sivonen A, Ogren M, Vuoristo M, Valtonen VV, Miettinen TA (1998) Long-term treatment of ulcerative colitis with ciprofloxacin: a prospective, double-blind, placebo-controlled study. *Gastroenterology* 115:1072-1078.
- Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B (1988) Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 29:990-996.
- Ugawa S, Ueda T, Ishida Y, Nishigaki M, Shibata Y, Shimada S (2002) Amiloride-blockable acid-sensing ion channels are leading acid sensors expressed in human nociceptors. *J Clin Invest* 110:1185-1190.
- Unruh AM (1996) Gender variations in clinical pain experience. *Pain* 65:123-167.
- Ursino MG, Vasina V, De Ponti F (2009) Protection from DNBS-induced colitis by the tachykinin NK(1) receptor antagonist SR140333 in rats. *Eur J Pharmacol* 603:133-137.
- Van Crombruggen K, Van Nassauw L, Timmermans JP, Lefebvre RA (2007) Inhibitory purinergic P2 receptor characterisation in rat distal colon. *Neuropharmacology* 53:257-271.
- van den Wijngaard RM, Klooker TK, Welting O, Stanisor OI, Wouters MM, van der Coelen D, Bulmer DC, Peeters PJ, Aerssens J, de Hoogt R, Lee K, de Jonge WJ, Boeckxstaens GE (2009) Essential role for TRPV1 in stress-induced (mast cell-dependent) colonic hypersensitivity in maternally separated rats.

- Neurogastroenterol Motil 21:1107-e1194.
- Van Kruiningen HJ, Joossens M, Vermeire S, Joossens S, Debeugny S, Gower-Rousseau C, Cortot A, Colombel JF, Rutgeerts P, Vlietinck R (2005) Environmental factors in familial Crohn's disease in Belgium. *Inflamm Bowel Dis* 11:360-365.
- van Zanten SV (2003) Diagnosing irritable bowel syndrome. *Rev Gastroenterol Disord* 3 Suppl 2:S12-17.
- Vaneckova I, Vylitova-Pletichova M, Beskid S, Zicha J, Pacha J (2001) Intracellular pH regulation in colonocytes of rat proximal colon. *Biochim Biophys Acta* 1536:103-115.
- Vanhoutvin SA, Troost FJ, Kilkens TO, Lindsey PJ, Hamer HM, Jonkers DM, Venema K, Brummer RJ (2009a) The effects of butyrate enemas on visceral perception in healthy volunteers. *Neurogastroenterol Motil* 21:952-e976.
- Vanhoutvin SA, Troost FJ, Hamer HM, Lindsey PJ, Koek GH, Jonkers DM, Kodde A, Venema K, Brummer RJ (2009b) Butyrate-induced transcriptional changes in human colonic mucosa. *PLoS One* 4:e6759.
- Varga G, Balint A, Burghardt B, D'Amato M (2004) Involvement of endogenous CCK and CCK1 receptors in colonic motor function. *Br J Pharmacol* 141:1275-1284.
- Varilek GW, Neil GA, Bishop WP, Lin J, Pantazis NJ (1995) Nerve growth factor synthesis by intestinal epithelial cells. *Am J Physiol* 269:G445-452.
- Velazquez OC, Lederer HM, Rombeau JL (1996) Butyrate and the colonocyte. Implications for neoplasia. *Dig Dis Sci* 41:727-739.
- Velazquez OC, Lederer HM, Rombeau JL (1997) Butyrate and the colonocyte. Production, absorption, metabolism, and therapeutic implications. *Adv Exp Med Biol* 427:123-134.
- Verma-Gandhu M, Verdu EF, Bercik P, Blennerhassett PA, Al-Mutawaly N, Ghia JE, Collins SM (2007) Visceral pain perception is determined by the duration of colitis and associated neuropeptide expression in the mouse. *Gut* 56:358-364.
- Verne GN, Robinson ME, Price DD (2001) Hypersensitivity to visceral and cutaneous pain in the irritable bowel syndrome. *Pain* 93:7-14.
- Vinolo MA, Hatanaka E, Lambertucci RH, Newsholme P, Curi R (2009a) Effects of short chain fatty acids on effector mechanisms of neutrophils. *Cell Biochem Funct* 27:48-55.
- Vinolo MA, Rodrigues HG, Hatanaka E, Hebeda CB, Farsky SH, Curi R (2009b) Short-chain fatty acids stimulate the migration of neutrophils to inflammatory sites. *Clin Sci (Lond)* 117:331-338.
- Viramontes BE, Camilleri M, McKinzie S, Pardi DS, Burton D, Thomforde GM (2001) Gender-related differences in slowing colonic transit by a 5-HT₃ antagonist in subjects with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 96:2671-2676.
- Voilley N, de Weille J, Mamet J, Lazdunski M (2001) Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. *J Neurosci* 21:8026-8033.
- von Boyen GB, Steinkamp M, Reinshagen M, Schafer KH, Adler G, Kirsch J (2006) Nerve growth factor secretion in cultured enteric glia cells is modulated by proinflammatory cytokines. *J Neuroendocrinol* 18:820-825.
- Waldmann R, Voilley N, Mattei MG, Lazdunski M (1996) The human degenerin MDEG, an amiloride-sensitive neuronal cation channel, is localized on chromosome 17q11.2-17q12 close to the microsatellite D17S798. *Genomics* 37:269-270.
- Waldmann R, Champigny G, Bassilana F, Heurteaux C, Lazdunski M (1997a) A proton-gated cation channel involved in acid-sensing. *Nature* 386:173-177.

- Waldmann R, Bassilana F, de Weille J, Champigny G, Heurteaux C, Lazdunski M (1997b) Molecular cloning of a non-inactivating proton-gated Na⁺ channel specific for sensory neurons. *J Biol Chem* 272:20975-20978.
- Waliszewski P, Blaszczyk M, Wolinska-Witort E, Drews M, Snochowski M, Hurst RE (1997) Molecular study of sex steroid receptor gene expression in human colon and in colorectal carcinomas. *J Surg Oncol* 64:3-11.
- Walker EA, Gelfand AN, Gelfand MD, Green C, Katon WJ (1996) Chronic pelvic pain and gynecological symptoms in women with irritable bowel syndrome. *J Psychosom Obstet Gynaecol* 17:39-46.
- Walker SM, Mitchell VA, White DM, Rush RA, Duggan AW (2001) Release of immunoreactive brain-derived neurotrophic factor in the spinal cord of the rat following sciatic nerve transection. *Brain Res* 899:240-247.
- Wang G, Tang B, Traub RJ (2005) Differential processing of noxious colonic input by thoracolumbar and lumbosacral dorsal horn neurons in the rat. *J Neurophysiol* 94:3788-3794.
- Wang G, Tang B, Traub RJ (2007) Pelvic nerve input mediates descending modulation of homovisceral processing in the thoracolumbar spinal cord of the rat. *Gastroenterology* 133:1544-1553.
- Wang H, Ehnert C, Brenner GJ, Woolf CJ (2006) Bradykinin and peripheral sensitization. *Biol Chem* 387:11-14.
- Wang LH, Fang XC, Pan GZ (2004) Bacillary dysentery as a causative factor of irritable bowel syndrome and its pathogenesis. *Gut* 53:1096-1101.
- Watanabe T, Kubota Y, Muto T (1998) Substance P containing nerve fibers in ulcerative colitis. *Int J Colorectal Dis* 13:61-67.
- Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W (2004) NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nat Immunol* 5:800-808.
- Wehkamp J, Schmid M, Stange EF (2007) Defensins and other antimicrobial peptides in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 23:370-378.
- Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, Shen B, Schaeffeler E, Schwab M, Linzmeier R, Feathers RW, Chu H, Lima H, Jr., Fellermann K, Ganz T, Stange EF, Bevins CL (2005) Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:18129-18134.
- Weiss N, De Waard M (2006) [Voltage-dependent calcium channels at the heart of pain perception]. *Med Sci (Paris)* 22:396-404.
- Wemmie JA, Price MP, Welsh MJ (2006) Acid-sensing ion channels: advances, questions and therapeutic opportunities. *Trends Neurosci* 29:578-586.
- Wemmie JA, Askwith CC, Lamani E, Cassell MD, Freeman JH, Jr., Welsh MJ (2003) Acid-sensing ion channel 1 is localized in brain regions with high synaptic density and contributes to fear conditioning. *J Neurosci* 23:5496-5502.
- Wemmie JA, Chen J, Askwith CC, Hruska-Hageman AM, Price MP, Nolan BC, Yoder PG, Lamani E, Hoshi T, Freeman JH, Jr., Welsh MJ (2002) The acid-activated ion channel ASIC contributes to synaptic plasticity, learning, and memory. *Neuron* 34:463-477.
- Weng M, Walker WA, Sanderson IR (2007) Butyrate regulates the expression of pathogen-triggered IL-8 in intestinal epithelia. *Pediatr Res* 62:542-546.
- Wilder-Smith CH, Robert-Yap J (2007) Abnormal endogenous pain modulation and somatic and visceral hypersensitivity in female patients with irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 13:3699-3704.
- Wilder-Smith CH, Schindler D, Lovblad K, Redmond SM, Nirkko A (2004) Brain functional magnetic resonance imaging of rectal pain and activation of endogenous inhibitory

- mechanisms in irritable bowel syndrome patient subgroups and healthy controls. *Gut* 53:1595-1601.
- Willing B, Halfvarson J, Dicksved J, Rosenquist M, Järnerot G, Engstrand L, Tysk C, Jansson JK (2008) Twin studies reveal specific imbalances in the mucosa-associated microbiota of patients with ileal Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*.
- Willis WD, Al-Chaer ED, Quast MJ, Westlund KN (1999) A visceral pain pathway in the dorsal column of the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:7675-7679.
- Winborn WB, Sheridan PJ, McGill HC, Jr. (1987) Sex steroid receptors in the stomach, liver, pancreas, and gastrointestinal tract of the baboon. *Gastroenterology* 92:23-32.
- Woodbury CJ, Kullmann FA, McIlwrath SL, Koerber HR (2008) Identity of myelinated cutaneous sensory neurons projecting to nociceptive laminae following nerve injury in adult mice. *J Comp Neurol* 508:500-509.
- Woolf CJ (2007) Central sensitization: uncovering the relation between pain and plasticity. *Anesthesiology* 106:864-867.
- Woolf CJ, Wall PD (1986) Relative effectiveness of C primary afferent fibers of different origins in evoking a prolonged facilitation of the flexor reflex in the rat. *J Neurosci* 6:1433-1442.
- Woolf CJ, Thompson SW (1991) The induction and maintenance of central sensitization is dependent on N-methyl-D-aspartic acid receptor activation; implications for the treatment of post-injury pain hypersensitivity states. *Pain* 44:293-299.
- Woolf CJ, Salter MW (2000) Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 288:1765-1769.
- Woolf CJ, Ma Q (2007) Nociceptors--noxious stimulus detectors. *Neuron* 55:353-364.
- Wu LJ, Duan B, Mei YD, Gao J, Chen JG, Zhuo M, Xu L, Wu M, Xu TL (2004) Characterization of acid-sensing ion channels in dorsal horn neurons of rat spinal cord. *J Biol Chem* 279:43716-43724.
- Wultsch T, Painsipp E, Shahbazian A, Mitrovic M, Edelsbrunner M, Lazdunski M, Waldmann R, Holzer P (2007) Deletion of the acid-sensing ion channel ASIC3 prevents gastritis-induced acid hyperresponsiveness of the stomach-brainstem axis. *Pain*.
- Xu GY, Winston JH, Shenoy M, Yin H, Pendyala S, Pasricha PJ (2007) Transient receptor potential vanilloid 1 mediates hyperalgesia and is up-regulated in rats with chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 133:1282-1292.
- Xu GY, Winston JH, Shenoy M, Zhou S, Chen JD, Pasricha PJ (2009) The endogenous hydrogen sulfide producing enzyme cystathionine-beta synthase contributes to visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome. *Mol Pain* 5:44.
- Xu P, Hall AK (2007) Activin acts with nerve growth factor to regulate calcitonin gene-related peptide mRNA in sensory neurons. *Neuroscience* 150:665-674.
- Xue Q, Jong B, Chen T, Schumacher MA (2007) Transcription of rat TRPV1 utilizes a dual promoter system that is positively regulated by nerve growth factor. *J Neurochem* 101:212-222.
- Yaksh TL (1999) Spinal systems and pain processing: development of novel analgesic drugs with mechanistically defined models. *Trends Pharmacol Sci* 20:329-337.
- Yaksh TL, Hua XY, Kalcheva I, Nozaki-Taguchi N, Marsala M (1999) The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistent small afferent input. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:7680-7686.
- Yiangou Y, Facer P, Birch R, Sangameswaran L, Eglen R, Anand P (2000) P2X3 receptor in injured human sensory neurons. *Neuroreport* 11:993-996.
- Yiangou Y, Facer P, Dyer NH, Chan CL, Knowles C, Williams NS, Anand P (2001a) Vanilloid receptor 1 immunoreactivity in inflamed human bowel. *Lancet* 357:1338-

- 1339.
- Yiangou Y, Facer P, Baecker PA, Ford AP, Knowles CH, Chan CL, Williams NS, Anand P (2001b) ATP-gated ion channel P2X(3) is increased in human inflammatory bowel disease. *Neurogastroenterol Motil* 13:365-369.
- Yiangou Y, Facer P, Smith JA, Sangameswaran L, Eglen R, Birch R, Knowles C, Williams N, Anand P (2001c) Increased acid-sensing ion channel ASIC-3 in inflamed human intestine. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 13:891-896.
- Zagon A (2001) Synaptic interactions in neurones of the rat rostral ventrolateral medulla oblongata. *Brain Res Brain Res Protoc* 7:21-29.
- Zamponi GW, Lewis RJ, Todorovic SM, Arneric SP, Snutch TP (2009) Role of voltage-gated calcium channels in ascending pain pathways. *Brain Res Rev* 60:84-89.
- Zha XM, Wemmie JA, Green SH, Welsh MJ (2006) Acid-sensing ion channel 1a is a postsynaptic proton receptor that affects the density of dendritic spines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:16556-16561.
- Zhang H, Yan Y, Shi R, Lin Z, Wang M, Lin L (2008) Correlation of gut hormones with irritable bowel syndrome. *Digestion* 78:72-76.
- Zhang X, Gokin AP, Giesler GJ, Jr. (2002) Responses of spinothalamic tract neurons in the thoracic spinal cord of rats to somatic stimuli and to graded distention of the bile duct. *Somatosens Mot Res* 19:5-17.
- Zhang X, Huang J, McNaughton PA (2005) NGF rapidly increases membrane expression of TRPV1 heat-gated ion channels. *Embo J* 24:4211-4223.
- Zheng LF, Wang R, Xu YZ, Yi XN, Zhang JW, Zeng ZC (2008) Calcitonin gene-related peptide dynamics in rat dorsal root ganglia and spinal cord following different sciatic nerve injuries. *Brain Res* 1187:20-32.
- Zhou Q, Price DD, Caudle RM, Verne GN (2009) Spinal NMDA NR1 subunit expression following transient TNBS colitis. *Brain Res*.
- Zhu ZW, Friess H, Wang L, Zimmermann A, Buchler MW (2001) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is upregulated and associated with pain in chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 46:1633-1639.
- Zhuo M, Gebhart GF (2002) Facilitation and attenuation of a visceral nociceptive reflex from the rostroventral medulla in the rat. *Gastroenterology* 122:1007-1019.
- Zigheboim J, Talley NJ, Phillips SF, Harmsen WS, Zinsmeister AR (1995) Visceral perception in irritable bowel syndrome. Rectal and gastric responses to distension and serotonin type 3 antagonism. *Dig Dis Sci* 40:819-827.
- Zimmermann M (1983) Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16:109-110.
- Zweifel LS, Kuruvilla R, Ginty DD (2005) Functions and mechanisms of retrograde neurotrophin signalling. *Nat Rev Neurosci* 6:615-625.



Starring : Pierre Sauvanet, Pauline Aubel, Denis Ardid, Alain Eschali r, Christine Courteix, Nicolas Authier, Céline Silberberg, Sophie Garcin, Stéphanie Grégoire, Agathe G lot, David Barrière, Xavier Pichon, Mehdi A t-Lahsen, Bing Ling, Anne-Marie Privat, Frédéric Libert, Christophe Claudon, Damien Brosson, Stéphane Lolignier, Ma ly Devilliers, Julien Matric n, Anne-Sophie Wattiez, Yao Potchoo, Christelle Blavignac, Michel Boucher, Aude Zangarelli, Joseph Fialip, Damien Richard, Claire Szczepaniak, Christophe Mallet, Monique Etienne, Didier Chanteranne, Jérôme Busserolles, Nina W rstrack, Vanessa Pereira, Nicolas Figeac, Claude Dubray, Karim Alloui, Vanessa Tixier, Emilie Müller, Eric Chapuy, Laëtitia Chapuis, Gisèle Pickering, Claude Chassaing, Sylvie Renaud, Jean-Paul Codron, Laurence Daulhac, Simon Lo iodice, Nicolas Kerckhove, Maryse Chalus, Mathieu Meleine, David Balayssac, Fabien Marchand, mon directeur de labo (jeune), mon directeur de thèse.

ce qui fait clermont : quand tu ne trouves plus de pain parce qu'il est déjà 18h15 et que toutes les boulangeries sont fermées # quand tu râles parce que le boulet en voiture devant toi est à 30km/h en ville # quand tu constates que la moitié des magasins du centre ville sont des boutiques de prothèses auditives # quand tu sais qu'il y a de belles expos temporaires de 18 mois au musée Quillot # quand tu vois que la nuit des musées se termine à 22h # quand tu dis "on fait quelque chose ce soir" et qu'on te répond "on boit ou bien?" # quand tu vois que toute la ville est déprimée fin juin parce que l'ASM s'est encore fait déboîter en finale du top14 # quand tu es le seul être humain vivant à Clermont le dimanche # quand tu pars faire une balade dans la nature et que tu croises la moitié de la fac # quand tu es bien content de toujours trouver quelqu'un pour s'enfiler une petite bière avec toi # quand tu peux trouver des bons produits du terroir qui déchaussent les dents au coin de ta rue # quand tu regrettes d'être dans la seule ville de france où ne coule pas un fleuve # quand tu rencontres des gens naturels et naturels toujours partants pour l'aventure # quand le sommet de la classe est d'arborer à tout bout de champ du jaune et du bleu # quand tu sais qu'il faut autant de temps pour faire Paris-Clermont que Paris-Marseille mais qu'heureusement, le TGV arrive en 2050 # quand tu regardes l'édition régionale auvergne et que tu crois que tu es tombé sur le "tout le sport" de la télévision moldave # quand le dernier tram est passé (à 23h30) et que tous les taxis sont déjà couchés # quand les gens te regardent bizarrement parce que tu leur dis bonjour # quand tu réalises qu'heureusement Clermont organise des échanges avec la Chine, parce que sinon, il n'y aurait pas un seul étranger dans la ville # quand tu bénis les dieux gaulois d'avoir créé en Auvergne un havre de calme et de tranquillité # quand tu peux trouver tous les genres de magasins juste en te balladant dans le centre ville # quand tu peux quitter la ville et te retrouver dans les montagnes avec de beaux paysages en moins de 10mn en voiture # quand tu sais que l'Auvergne, quelque part, c'est la vraie france, la france authentique et traditionnelle # quand le travelo de la rue Cadène t'a déjà dit "tu montes, mon mignon?" # quand tu peux admirer les plaines de la limagne et de l'autre côté la chaîne des volcans du haut de la Cathédrale # quand tu te jures de ne plus aller au café del sol parce que vraiment, il n'y a que des kékés là-bas # quand tu te dis qu'il y a quand même de bonnes adresses à Clermont après avoir mangé au Santooka # quand tu espères que Broke James ne sera pas remplacé par Elissade à la saison prochaine # quand il fait beau et que tu admires le plateau de Gergovie depuis la terrasse des Beaux-Arts # quand tu sens la vache sitôt sorti de la ville # quand t'en a marre qu'on te parle de Michelin quand tu dis que t'habites à Clermont # quand tu regrettes que Brice Hortefeux vienne de ta ville # quand tu es allé au B-Box et que t'as remarqué qu'ils laissent entrer n'importe qui # quand t'es heureux de payer un loyer raisonnable, alors que t'habites en plein centre ville # quand tu ris au blagues de Chraz', surtout quand elles sont pas drôles, vu que c'est ça son humour # quand tu sais que Serge Godard est maire à vie # quand t'as pas peur de monter, descendre, monter, descendre, monter, descendre... # quand tu te dis que quand même, le jardin Lecoq, c'est magnifique # quand tu t'es déjà arrêté bourré devant la Cathédrale et que tu t'es dit: 'Ouahh!!!! C'est beau!!!' # quand tu arrives à Paris et qu'on te demande s'il y a des vaches autour de ta maison à Clermont... # quand tu as fini au moins une fois dans la fontaine de la Victoire tout habillé # quand tu te demandes si un jour Ikea s'installera dans la ville # quand pour toi le Tram est de couleur "fleur de lave" # quand t'as remarqué que dans la vieille ville il n'y a que des antiquaires # quand tu sais que descendre Lafayette n'a strictement rien à voir avec le meurtre d'un marquis # quand tu te lèves tous les matins en admirant le Puy-de-Dôme # quand tu sais que le Boudha Bar est réservé aux gens de l'ESC et que ça t'énervé # quand t'as remarqué que la place de Jaude penche et que tu te demandes toujours pourquoi ils l'ont faite ainsi # quand t'as remarqué que le Tram grince à l'infini # quand t'aurais préféré qu'ils construisent un parc à la place du centre Jaude 2 # quand pour 2 euros tu peux aller voir des courts métrages de grande qualité et que t'adores ça # quand tu sais que l'ASM gagnera le top 14 (ou pas) # quand tu as déjà commandé de la vodka à 2h du mat' chez Apéro Max et que t'a été servi à 3h30... # quand tu ne peux pas t'ennuyer car y'a toujours quelqu'un à aller voir car tous tes copains alcooliques vivent à 2 pas # quand tu vas plus à l'OXOXO car ça se bat tout le temps # quand au fond de toi tu crois toujours que le Clermont Foot va monter en Ligue 1 # quand tu nettoies tes chaussures après être allé au Gormen's # quand tu as peur que le ciel te tombe sur la tête # quand tu sais que Jeanne et Blaise se tirent la bourre en permanence, mais qu'au fond, ils s'aiment

bien # quand comme bon sportif que tu es tu connais le SIUAPS et le stade Philippe Marcombes...rendez vous des joggers!!! # quand t'as déjà fait une pétanque aux Salins et que tu connais le Petit Bouchon # quand t'es trop en galère de clopes le dimanche soir et que t'es obligé d'aller à la gare où le seul tabac de la ville est ouvert et que t'as l'impression que tout Clermont s'est donné rendez vous parce c'est la rade générale de clopes # quand on te dis "Clermont-Ferrand? c'est dans le sud? dans le nord?" selon où tu te trouves en France alors que toi tu connais bien toutes les autres villes parce toi tu as vécu au carrefour de la France # quand tu critiques Michelin mais que jamais tu acheterais autre chose comme pneus # quand tu te demandes pourquoi le Tram ne passe pas par la gare # quand tu sais que l'effet d'optique de la place de Jaude c'est que la statue du général Desaix a une bite # quand ton fromage préféré c'est le Saint Nectaire # quand tu croises Jean-Louis Murat complètement pété en terrasse des Beaux Arts et que tu crains soudainement pour ta vie # quand tu sais ce que tu peux trouver quand tu vas place du Mazet # quand tu penses que la plus belle chose qu'il soit arrivé en 2008 c'est les pelouses "en libre service" du jardin Lecoq... # quand tu sais que la Coopé est l'une des meilleures salles françaises # quand tu sais que Clermont c'est un bastion de la gauche # quand pendant une semaine en octobre tu est bourré 24/24h parce que c'est la fête des étudiants et que...t'es étudiant!!! # quand tu sais qu'on appelle la fac de lettre "la baleine" # quand le travelo de la rue des Minimes t'as déjà demandé une clope # quand t'as déjà fait la tournée des bars boulevard Trudaine # quand chaque année tu fais la fête de la bière...oups...de la musique à Clermont et que tu te promets de ne jamais la refaire ici # quand tu es allé au moins 1 fois à Charade # quand tu sors en boîte t'es content de voir Boudu car t'es heureux de lui faire un smack # quand tu connais le nom d'au moins 5 volcans et pas que le Puy-de-Dôme...# quand tu dis "ça pleut" au lieu de "il pleut" # quand tu bois de la gentiane et que tu trouves ça dégueulasse mais que tu dis "ah c bon ça" # quand tu as connu le Chapito place des salins qu'on appelait l'arrière court et où tout le monde faisait la teuf # quand tu prononces "drolle" au lieu de "drôle", "goche" au lieu de "gauche", "rhose" au lieu de "rose" # quand tu connais la Baraque # quand tu es allé au ski à Super-Besse # quand tu as écouté les échos des roches Tuilière et Sanadoire # quand tu vois régulièrement des montgolfières dans le ciel # quand tu as déjà mis les pieds dans la grande halle Auvergne # quand tu dis que cette place de Jaude (prononcé avec l'accent) ils l'ont vraiment mal foutu et que ça manque de verdure pour voir qu'on est en Auvergne # quand tu désespères de voir tous les feux de signalisation sans aucune synchronisation # quand on t'as déjà dit: "mais chez toi c'est tout moche, les batiments sont noirs" et que t'as répondu: "c'est de la pierre volcanique" # quand tu trouves que le plus grand personnage de l'histoire de France, c'est Vercingétorix # quand tu sais que Vulcania c'est sympa, mais que ça marche pas du tout # quand tu bois de la Volvic # quand t'es fier qu'un président vienne de Clermont # quand tu parles encore avec émotion du phoque (enfin l'otarie) du jardin Lecoq mort d'une tumeur # quand pour acheter un livre, tu vas aux Volcans # quand tu écoutais Squeeze Groove à fond il y a une dizaine d'années # quand tu te dis que le Gormen's est la boîte la plus pourrie du monde mais que tu y vas quand même # quand tu sais que le Five s'appelait l'Oxxo qui s'appelait le Gasoil... # quand tu vas a l'Appart et que tu demandes la compile rock # quand tu sais qu'à l'Appart, il vaut mieux de boire "rien" # quand en 5mn tu peux t'amuser avec les vaches # quand tu sais que assis place de Jaude, tu as le cul posé sur un des volcans les plus méchants # quand tu sais que la France, c'est l'AUVERGNE avec quelque chose autour... # quand tu connais ces quelques **idiomes indispensables pour se faire comprendre des autochtones**: j'ai les dents du fond qui baignent, je me suis oublié, faut que j'y ale, il a sorti le tire-jus, t'en veux mieux, z'avez besoin d'une poche, ça piaille, ça braille, j'y ai pas le goût, je machine, c'est tout démiaulé, pareillement, blanc du matin n'arrête pas l'ouvrier michelin, y'a baleine sous gravier, je me suis pris une fume et aussi une charge, bravo les branles-manettes, j'y vois pas beau, allez vous faire peindre, une vache y retrouverait pas son veau, c'est d'une grasseur, j'y envoie le bois, ça y envoie meuh-meuh, sœur sourire a la bouche montée à l'envers, ça lui a pris comme une envie de chier, il va pouvoir se la coller derrière l'oreille et se la frotter contre le mur, c'est la montée de sève ! BRAVO L'AUVERGNE ! # BRAVO L'AUVERGNE ! # BRAVO L'AUVERGNE ! # BRAVO L'AUVERGNE ! # BRAVO L'AUVERGNE ! # BRAVO L'AUVERGNE ! #



Julien Matricon - Étude de l'implication du nerve growth factor (NGF) et des acid-sensing ion channels (ASIC) dans l'hyper-sensibilité colique induite par le butyrate chez le rat.
Thèse de Doctorat d'Université (Décret du 5 juillet 1984), Clermont-Ferrand, soutenue le 12 Mars 2010.

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) touche près de 5% de la population occidentale. Les douleurs abdominales observées dans le SII s'expriment en l'absence d'atteinte organique ce qui rend difficile la compréhension des mécanismes physio-pathologiques de ce trouble. Nous avons utilisé un modèle animal de SII développé au laboratoire, le modèle butyrate, afin d'explorer l'étiologie du SII. Ce modèle consiste en 6 instillations intra-coliques de butyrate 200mM, réalisées sur une durée de 4 jours, qui induisent une hyper-sensibilité colique (HSC) chez le rat dès la fin des instillations. L'HSC induite par le butyrate est évaluable par le test de distension colo-rectale (DCR). Elle est persistante et ne s'accompagne pas de lésion de la muqueuse colique ce qui est en accord avec les caractéristiques cliniques du SII.

L'objectif de ce travail de thèse a été de décortiquer les mécanismes périphériques et centraux de l'HSC induite par le butyrate chez le rat. Nous avons émis l'hypothèse que le nerve growth factor (NGF), une neurotrophine impliquée dans la nociception et dans les processus d'inflammation neurogène, pourrait contribuer à la sensibilisation du côlon.

Nous avons montré que l'administration répétée d'anticorps anti-NGF (voie i.p.) prévient l'HSC induite par le butyrate, évaluée par le test de DCR. De plus, le NGF, quantifié par immuno-histo-chimie (IHC), est sur-exprimé dans les ganglions rachidiens dorsaux (GRD) innervant le côlon. Le NGF est impliqué dans le développement des phénomènes d'hyperalgie en induisant l'expression de molécules jouant un rôle clé dans la nociception comme les canaux ioniques. Notre attention s'est portée sur les canaux ioniques sensibles à l'acide (ASIC) et le transient receptor potential vanilloïd1 (TRPV1) car de nombreuses études ont montré leur implication dans les douleurs viscérales et leur modulation par le NGF.

L'administration d'amiloride (antagoniste des canaux ASIC, voie i.v.) mais pas celle de capsazepine (antagoniste du TRPV1, voie i.p.) a prévenu l'HSC induite par le butyrate, évaluée par DCR. De plus, nous avons montré par RT-PCR que le niveau d'expression des ARNm ASIC1a et ASIC1b est augmenté dans les GRD des rats butyrate. Cette augmentation est corrélée à une augmentation de l'expression de la protéine ASIC1A dans les neurones sensoriels de petit diamètre, quantifiée par IHC. Nous avons ensuite voulu savoir si, en accord avec la bibliographie, la sur-expression de ASIC1A pouvait être la conséquence de la sur-expression du NGF.

Nous avons tout d'abord montré par microscopie confocale que le NGF et son récepteur de haute affinité (trkA) sont co-localisés avec ASIC1A dans les neurones sensoriels exprimant le calcitonin gene-related peptide. La sur-expression de ASIC1A dans les GRD est prévenue par le blocage du NGF après administration d'anti-NGF. Nous en avons conclu que le NGF et le canal ASIC1A interviennent dans les neurones sensoriels où ils participent aux phénomènes de sensibilisation concourant au développement de l'HSC induite par le butyrate. Comme nous ne rapportons pas de variation d'expression du NGF et de ASIC1A au niveau colique, ces résultats suggèrent que la mise en jeu de ces molécules ne se fait pas au niveau des terminaisons libres coliques mais plutôt dans l'élément pré-synaptique. Nous avons ainsi émis l'hypothèse que l'HSC induite par le butyrate est associée à une sensibilisation centrale de la moëlle épinière (MEp).

L'étude de l'expression spinale de la protéine Fos chez les rats soumis à une DCR douloureuse répétée a montré que l'HSC induite par le butyrate s'accompagne spécifiquement du recrutement des segments thoraciques T10-T11-T12 de la MEp dans lesquels nous avons observé une hyper-réactivité neuronale en réponse à la DCR. De plus, en l'absence de stimulation colique, les rats butyrate présentent une hyper-activité basale dans les segments T10-T11-T12.

L'administration de PcTx1 (antagoniste des canaux ASIC1A, voie i.t.) prévient l'HSC induite par le butyrate, évaluée par DCR. Nous avons également montré par RT-PCR et Western blot que le canal ASIC1A est sur-exprimé dans la MEp des rats butyrate. De plus, il est exprimé dans les neurones spinaux activés par la DCR où il est co-localisé avec Fos. ASIC1A pourrait donc participer à la transmission du message nociceptif viscéral dans la corne dorsale de la MEp. Tout comme à la périphérie, cette sur-expression pourrait dépendre du NGF. Nos résultats montrent que l'administration d'anti-NGF prévient la sur-expression des ARNm et de la protéine ASIC1A dans la MEp des rats traités avec du butyrate.

En conclusion, ce travail de thèse suggère que le NGF et le canal ASIC1A jouent un rôle critique dans le développement de douleurs viscérales en contribuant à la fois aux phénomènes de sensibilisation périphérique et centrale. La meilleure compréhension des mécanismes par lesquels le NGF module l'expression de ASIC1A dans l'HSC pourrait donc ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le traitement du SII en utilisant des stratégies visant à diminuer l'effet potentialisateur du NGF sur les ASIC.

Mots-clés

Douleur viscérale, hyper-sensibilité colique, syndrome de l'intestin irritable, modèle animal, butyrate, physio-pathologie, nerve growth factor, acid-sensing ion channel, neurone sensoriel, moëlle épinière, distension colo-rectale, immuno-histochimie, western blot, qPCR, microscopie confocale, Fos.

Membres du jury

Alain Eschalier (Président)
Denis Ardid (Directeur de thèse)
Emmanuel Bourinet (Rapporteur)
Philippe Ducrotté (Rapporteur)
Eric Linguégla (Rapporteur)

Date de soutenance

12 Mars 2010

Adresse de l'auteur

Laboratoire de Pharmacologie médicale et clinique de la douleur – UMR U766 INSERM/UdA
Faculté de Médecine - 28 place Henri Dunant – 63001 Clermont-Ferrand